

# Université Victor Segalen Bordeaux 2

Année 2010

Thèse n° 1771

## THÈSE

pour le

## DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 2

**Mention : Sciences, Technologie, Santé**

**Option : Œnologie**

**Présentée et soutenue publiquement**

*Le 08 décembre 2010*

*Par Julien CHUCHE*

*Né le 16 décembre 1981 à Limoges*

## **Comportement de *Scaphoideus titanus*, conséquences spatiales et démographiques**

### **Membres du Jury**

M. Frédéric MARION-POLL, Professeur, AgroParisTech .....Rapporteur  
M. Yvan RAHBE, Directeur de recherches, INRA Rhône-Alpes .....Rapporteur  
M. Alain BLANCHARD, Professeur, Université de Bordeaux.....Examineur  
M. Michael GREENFIELD, Professeur, Université de Tours .....Examineur  
M. Etienne HERRBACH, Chargé de recherches, INRA de Colmar .....Examineur  
M. Olivier LE GALL, Directeur de recherches, INRA de Bordeaux .....Examineur  
M. Denis THIERY, Chargé de recherches, INRA de Bordeaux .....Directeur de thèse



## Résumé

La Flavescence dorée est une maladie à phytoplasme incurable qui affecte la vigne. Cette pathologie est uniquement transmise de plante à plante par la cicadelle vectrice *Scaphoideus titanus*. Malgré l'importance de cette maladie, peu d'études ont été menées sur le vecteur. Ce travail de thèse vise à apporter des connaissances sur la biologie et l'écologie de *S. titanus* mais aussi de manière plus générale sur l'écologie des insectes phytophages. Trois grands thèmes ont été abordés dans ce mémoire : i) les relations entre l'insecte et son environnement à travers l'influence des températures hivernales sur les œufs en diapause, ii) les relations de l'insecte avec sa plante hôte en examinant l'attractivité de cette dernière et le comportement alimentaire du vecteur, iii) les interactions entre congénères par l'étude du comportement d'agrégation des larves. Les résultats obtenus indiquent que 1) des températures froides ne sont pas indispensables à la levée de diapause mais affectent la protandrie en régulant le sex-ratio opérationnel, 2) l'attractivité de la plante hôte est en grande partie liée à sa couleur et il existe des différences de comportement en fonction du stade de développement, 3) les mâles et les femelles n'ont pas le même comportement alimentaire, ce qui pourrait expliquer leur différentes capacités de vection, 4) l'agrégation des larves ne semble pas due à un recrutement actif de leur part et pourrait contribuer à un transfert horizontal de phytoplasme d'insecte à insecte via la plante. A terme, ces connaissances pourront contribuer à l'élaboration de pistes alternatives à la lutte chimique actuelle contre cette cicadelle dans le cadre d'une réduction des intrants.

Mots Clés : Agrégation, Auchenorrhyncha, *Candidatus* Phytoplasma vitis, Cicadellidae, diapause, électropénétrographie, Hemiptera. phytoplasme, *Scaphoideus titanus*, sex-ratio opérationnel, vection, *Vitis vinifera*.

### Laboratoire :

UMR1065 Santé Végétale INRA -ENITA  
Institut des Sciences de la Vigne et du Vin  
Centre de recherches Bordeaux-Aquitaine  
71, avenue Edouard Bourlaux BP 81  
33883 Villenave d'Ornon cedex  
France

## **Abstract**

The Flavescence dorée is an incurable phytoplasma disease of grapevine. This pathology is exclusively transmitted from plant to plant by the leafhopper vector *Scaphoideus titanus*. Despite the importance of this disease, few studies have been conducted on the vector. This thesis aims to provide knowledge on the biology and ecology of *S. titanus* but also more broadly on the ecology of phytophagous insects. Three major themes were addressed in this thesis: i) the relationships between the insect and its environment through the influence of winter temperatures on diapausing eggs, ii) the relationships of the insect with its host plant by examining the attractiveness of the plant and the feeding behaviour of the vector, iii) interactions between congeners in the study of the aggregative behaviour of larvae. Our results indicate that 1) cold temperatures are not essential to break the diapause but contribute to protandry through operational sex ratio regulation, 2) the attractiveness of the host plant is largely due to its colour and different instars exhibit differences in behavioural choices, 3) males and females have different feeding behaviour which may explain their different efficiencies at vection, 4) the aggregation of larvae did not seem to result from active recruitment and could contribute to horizontal insect to insect transfer of phytoplasma through the plant. Such knowledge can contribute to the development of alternative *S. titanus* pest management techniques.

Key Words: Aggregation, Auchenorrhyncha, *Candidatus* Phytoplasma vitis, Cicadellidae, diapause, electropenetrography, Hemiptera. Phytoplasma disease, *Scaphoideus titanus*, operational sex-ratio, vection, *Vitis vinifera*.

### **Laboratory:**

UMR1065 Santé Végétale INRA -ENITA  
Institut des Sciences de la Vigne et du Vin  
Centre de recherches Bordeaux-Aquitaine  
71, avenue Edouard Bourlaux BP 81  
33883 Villenave d'Ornon cedex  
France



*Dans les sciences, le chemin est plus important que le but. Les sciences n'ont pas de fin.*

Erwin Chargaff

*A Louis...*

## Remerciements

Trois belles années viennent de s'écouler et je me dois de remercier toutes celles et ceux qui ont contribué, de près ou de loin, au bon déroulement de cette thèse.

Je tiens à remercier en tout premier lieu Denis Thiéry qui a dirigé cette thèse et qui au long de ces trois années a su me laisser une grande liberté et me faire profiter de ses qualités scientifiques et humaines. Denis, tu es et seras toujours plus que mon directeur de thèse.

Je remercie les rapporteurs de cette thèse, Frédéric Marion-Poll et Yvan Rahbé, pour avoir accepté de prendre de leur temps pour lire ce manuscrit. Merci également aux examinateurs : Alain Blanchard, Michael Greenfield, Etienne Herrbach et Olivier Le Gall, qui ont accepté de juger ce travail et de l'intérêt qu'ils lui ont porté.

L'Unité de Santé Végétale a été ma deuxième maison et je voudrais remercier mes collègues de la Santé Végétale pour tout ce qu'ils m'ont apporté, que ce soit au niveau technique et humain. Un merci particulier à Seb pour avoir assuré la production des boutures de vigne ainsi que d'avoir aménagé les différentes parties des serres à chaque fois que j'en ai eu besoin ; aux Marie's du secrétariat pour avoir su jongler avec le financement de la thèse, facilité les missions à l'extérieur ainsi que toutes les tracasseries administratives ; à Bernard "Magic" Chauvin pour son aide lors du ramassage des bois de vignes dans la rudesse de l'hiver de l'Entre-Deux-Mers, sa maîtrise de la Kangoo et ses leçons de séduction à l'Auberge des Voyageurs. Enfin, merci à toi Olivier qui par ton arrivée en cours de projet m'a permis de me soulager dans la réalisation des manips. L'aide que tu m'as apportée, particulièrement en biochimie, n'a d'égale que ton obstination à vouloir faire des imitations réussies ou à surfer le mascaret. Courage !!!

Ces travaux n'auraient pas été ce qu'ils sont sans l'aide précieuse des différentes stagiaires qui m'ont aidé tout en me supportant. Aline, Eloïse et Thérèse, je vous remercie et vous souhaite bonne chance pour la suite...

Merci à l'équipe "Bactéries intraphloémiques" de l'unité GDPP, en particulier à Sylvie Malembic-Maher pour son aide dans la détection du phytoplasme dans les plantes et les insectes.

Merci aux bibliothécaires, Marie-Hélène Bridet et Marion Valentin pour m'avoir aidé dans ma quête bibliographique.

Ma thèse doit beaucoup à l'équipe "Biologie et écologie des bactéries du phloème" de l'INRA de Dijon. Merci Elisabeth de m'avoir permis de faire des manip à Dijon, de m'avoir appris toutes ces choses sur la Flavescence dorée, d'avoir accepté de faire partie de mon comité de suivi de thèse et d'avoir toujours répondu à mes questions. Merci à Denis Clair et Bernard Alixant pour votre aide au ramassage des bois de vigne dans le très rude hiver bourguignon, les cafés et les repas au restaurant de Saint-Désert. Bonne retraite à ceux qui y sont déjà. Bernard, courage, c'est pour bientôt.

Merci à Nicolas Sauvion de m'avoir initié à l'électropénétrographie à Montpellier, et d'avoir participé au comité de pilotage de ma thèse.

Merci à Jean-Pierre Renaudin, mon tuteur, de s'être intéressé à mes recherches malgré la distance existant entre nos domaines scientifiques.

Merci à Valerio Mazzoni de m'avoir invité dans son laboratoire pour faire des manip et de m'avoir initié à la communication vibratoire chez les cicadelles. Grazie mille pour ton accueil ainsi que celui des autres membres du labo : Valerio (Marvel), Gianfranco, Elisabetta, Mohammed, Sophia...

Merci à Lionel Jordan de nous avoir permis d'utiliser le planimètre de l'ENITA et à Céline Gire de nous avoir montré son fonctionnement.

Merci à Alexandra ter Halle (CNRS Clermont-Ferrand) de nous avoir fourni gracieusement le mélange anthocyanes/polyphénols et l'huile de neem.

Je remercie les viticulteurs de Gironde et de Saône et Loire qui m'ont permis de prélever des bois de vigne dans leurs parcelles et d'ainsi pouvoir disposer de cicadelles.

Je remercie le Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux (CIVB), la Région Aquitaine et le département Santé des Plantes et Environnement (SPE) de l'INRA pour leur soutien financier qui a rendu possible le déroulement de cette thèse.

Qu'aurait été ma thèse sans les matchs de bad' endiablés du jeudi soir avec Loïc, Hélène, Teresa, José, Gaëlle, Christelle, Jean-Jacques... Quel bonheur que de pouvoir frapper dans un volant pour évacuer les frustrations et tensions d'une journée de manip ou de rédaction.

Merci à Delphine qui a su allier mathématiques et entomologie, a essuyé les plâtres et a tenu à me motiver depuis l'autre côté de l'Atlantique.

Un grand merci à mes parents pour ne m'avoir jamais imposé mon orientation et de ne pas avoir crié au fou quand je voulais être cryptozoologue ou faisais respirer des crottes de chenilles à des guêpes.

Merci Emilie d'avoir toujours été là, de t'être intéressée à ce que je faisais (quand on connaît ton amour des sciences...) et surtout de m'avoir fait le plus beau des cadeaux, mon petit Loulou. L'aventure ne fait que commencer...

Enfin, merci à toutes les personnes, qui de près ou de loin, ont manifesté de l'intérêt pour mes travaux, qui m'ont permis de m'enrichir intellectuellement et que j'aurai oublié de citer.

Merci à tous.



# Table des matières

<b>Introduction.....</b>	<b>16</b>
A. Contexte de l'étude.....	17
B. La vection .....	20
1. Comment naît une maladie vectée ?.....	22
2. Relations entre le vecteur et les autres acteurs de la vection.....	22
3. Propriétés des pathogènes vectés.....	25
C. Phytoplasmoses.....	26
1. Généralités.....	26
2. Les phytoplasmes.....	27
3. Phytoplasme et vecteur.....	29
4. Phytoplasme et plante hôte.....	32
5. Phytoplasmoses et vigne.....	35
<b>Etat de l'art de la biologie et de l'éco-éthologie du modèle biologique <i>Scaphoideus titanus</i> / 'Candidatus Phytoplasma vitis' / <i>Vitis vinifera</i>.....</b>	<b>38</b>
A. <i>Scaphoideus titanus</i> .....	39
1. Repères historiques et répartition actuelle.....	39
2. Description des différents stades de développement.....	44
3. Cycle de vie.....	46
4. Ennemis naturels.....	47
5. Relations avec la ressource alimentaire.....	48
6. Dynamique spatiale et temporelle.....	52
7. Nuisibilité.....	53
B. La Flavescence dorée.....	54
1. Historique de l'épidémie de Flavescence dorée.....	55
2. Flavescence dorée : maladie américaine ou européenne ?.....	56
3. Symptomatologie et étiologie de la Flavescence dorée.....	58
4. Phénomène de rétablissement.....	61
C. Cycle de la Flavescence dorée : de la plante à l'insecte, et vice versa.....	63
D. Lutte contre la Flavescence dorée.....	66
1. Aspects réglementaires.....	66
2. Lutte conventionnelle.....	67
3. Suivi des populations de vecteur.....	68
4. Des pistes pour le futur.....	69

## Chapitre 1 : Influence des températures hivernales sur la sortie de diapause de *Scaphoideus titanus* ..... 71

A.	Introduction .....	72
B.	Matériels et méthodes .....	74
1.	<i>Insectes</i> .....	74
2.	<i>Effet "cépage"</i> .....	76
3.	<i>Effet de la durée d'exposition des œufs au froid</i> .....	76
4.	<i>Simulations hivernales</i> .....	77
5.	<i>Etude du besoin de froid comme caractère indispensable à la levée de la diapause</i> .....	78
6.	<i>Importance des températures hivernales sur la synchronisation de S. titanus avec la vigne (bois coupés)</i> .....	79
7.	<i>Importance des températures hivernales sur la synchronisation de S. titanus avec la vigne (ceps en pots)</i> .....	79
8.	<i>Importance de l'âge de la ressource sur la fitness de S. titanus</i> .....	80
9.	<i>Variation de la qualité de phloème avec l'âge de la feuille</i> .....	81
a)	Obtention du phloème.....	81
b)	Composition en acides aminés.....	82
c)	Concentration en saccharose.....	82
d)	Surface foliaire.....	83
10.	<i>Analyses statistiques</i> .....	83
a)	Dynamiques d'éclosions.....	83
b)	Traits d'histoire de vie.....	83
c)	Synchronisation des éclosions avec le débourrement des bourgeons de vigne .....	84
d)	Composition chimique du phloème de vigne.....	84
C.	Résultats.....	85
1.	<i>Effet "cépage"</i> .....	85
2.	<i>Effet de la durée d'exposition des œufs au froid</i> .....	86
3.	<i>Simulations hivernales</i> .....	87
4.	<i>Etude du besoin de froid comme caractère indispensable à la levée de la diapause</i> .....	89
a)	Effets des températures hivernales sur le sex-ratio .....	90
b)	Effets des températures hivernales sur les traits d'histoire de vie.....	92
5.	<i>Importance des températures hivernales sur la synchronisation de S. titanus avec la vigne</i> .....	94
a)	Synchronisation de <i>S. titanus</i> avec sa plante hôte .....	94
b)	Importance de l'âge de la ressource sur la fitness de <i>S. titanus</i> .....	97
c)	Variation de la qualité de phloème avec l'âge de la feuille .....	98
D.	Discussion.....	102
1.	<i>Le froid n'est pas indispensable à la sortie de diapause mais a un rôle important sur la dynamique d'éclosion</i> .....	102
2.	<i>Le froid est un signal utilisé par la plante et l'insecte qui permet une bonne synchronisation du débourrement des bourgeons et des éclosions</i> .....	104
3.	<i>La qualité de la ressource varie au cours du temps mais n'a pas d'impact sur la fitness de S. titanus</i> .....	105



4.	<i>Les températures hivernales ont également un effet sur le sex-ratio opérationnel (SRO) et la fitness individuelle.</i>	106
5.	<i>Apport de ces connaissances dans l'épidémiologie de la FD.</i>	109
<b>Chapitre 2 : Attractivité de la plante hôte</b>		<b>111</b>
A.	Introduction	112
B.	Matériels et méthodes	116
1.	<i>Attractivité olfactive de la plante</i>	116
2.	<i>Effet fixateur des odeurs de la plante hôte</i>	118
3.	<i>Mesure de la sensibilité olfactive des antennes</i>	119
4.	<i>Attractivité de stimuli visuels</i>	120
5.	<i>Influence des caractéristiques de la plante hôte</i>	121
6.	<i>Vérification de la présence de phytoplasme par la technique de nested-PCR</i>	122
a)	Extraction de L'ADN	122
b)	Amplification de L'ADN	123
c)	Electrophorèse	123
7.	<i>Essais de diminution de l'attractivité de la plante hôte</i>	124
8.	<i>Statistiques</i>	126
C.	Résultats	127
1.	<i>Attraction olfactive vers la plante</i>	127
2.	<i>Effet fixateur des odeurs de la plante hôte</i>	128
3.	<i>Mesure de la sensibilité olfactive des antennes</i>	129
4.	<i>Attractivité de stimuli visuels</i>	131
5.	<i>Influences des caractéristiques de la plante hôte</i>	132
a)	Préférences entre plantes saines	132
b)	Préférences entre plantes saines et atteintes de FD	132
6.	<i>Essais de diminution de l'attractivité de la plante hôte</i>	133
D.	Discussion	134
1.	<i>S. titanus est très sensible aux flux d'air et l'olfaction ne doit pas avoir un grand rôle dans l'attraction à distance</i>	134
2.	<i>La couleur est probablement impliquée dans l'attraction à distance</i>	136
3.	<i>L'état sanitaire de la plante hôte et le stade de développement de l'insecte sont des paramètres importants régissant les choix de S. titanus</i>	138
4.	<i>Le kaolin, pulvérisé sur les feuilles, pourrait être un bon répulsif</i>	139
5.	<i>Apport de ces connaissances dans l'épidémiologie de la FD</i>	140
<b>Chapitre 3 : Comportement d'agrégation des larves</b>		<b>142</b>
A.	Introduction	143
B.	Matériels et méthodes	146
1.	<i>Les larves s'agrègent-elles ?</i>	146
2.	<i>Quels stimuli de la plante hôte peuvent être impliqués ?</i>	146
a)	La couleur	146

b)	L'âge de la ressource .....	147
3.	<i>Quels stimuli provenant des congénères peuvent-êtré impliqués ?</i> .....	148
a)	Réponse aux odeurs de congénères .....	148
b)	L'agrégation peut-elle résulter d'une communication entre les larves ? .....	149
(1)	Insectes .....	149
(2)	Enregistrements des signaux vibratoires et observations comportementales .....	149
(3)	Emissions de vibrations spontanées .....	150
(4)	Réponses des larves à des stimuli vibratoires .....	150
(5)	Réponses des larves à la présence de prédateurs .....	151
c)	Essais de transmission horizontale .....	152
d)	Statistiques .....	153
C.	Résultats .....	153
1.	<i>Les larves ont tendance à se regrouper.</i> .....	153
2.	<i>Quelles informations produites par la plante hôte peuvent être impliquées ?</i> .....	154
a)	La couleur peut représenter un stimulus d'agrégation .....	154
b)	L'âge de la ressource peut également être un facteur intervenant dans l'agrégation .....	154
3.	<i>Quels stimuli provenant des congénères peuvent être impliqués ?</i> .....	155
a)	Les larves sont insensibles aux odeurs de congénères .....	155
b)	L'agrégation des larves ne peut être expliquée par une communication vibratoire entre congénères .....	156
4.	<i>L'agrégation des larves ne semble pas être une stratégie de réponse aux prédateurs.</i> .....	158
5.	<i>Essais de transmission horizontale.</i> .....	158
a)	Le modèle expérimental <i>E. variegatus</i> / <i>V. faba</i> .....	158
b)	Le modèle "naturel" <i>S. titanus</i> / <i>V. vinifera</i> .....	159
D.	Discussion .....	160
1.	<i>L'agrégation des larves de S. titanus ne semble pas être de nature "sociale"</i> .....	160
2.	<i>Les caractéristiques de la plante hôte doivent avoir un rôle dans l'agrégation</i> .....	161
3.	<i>Apport de ces connaissances dans l'épidémiologie de la FD.</i> .....	162
<b>Chapitre 4 : Etude du comportement alimentaire de <i>S. titanus</i> en électropénétrographie</b> .....		<b>164</b>
A.	Introduction .....	165
B.	Matériels et méthodes .....	166
1.	<i>Matériel biologique.</i> .....	166
2.	<i>Enregistrements</i> .....	167
3.	<i>Analyse des signaux</i> .....	168
4.	<i>Statistiques</i> .....	168
C.	Résultats .....	169
1.	<i>Caractérisation des signaux enregistrés en EPG.</i> .....	169
a)	Xylème .....	169
b)	Phloème .....	170
c)	Salivation .....	171
2.	<i>Comparaison du comportement alimentaire des mâles et des femelles en lien avec le potentiel de vexion</i> .....	171

D. Discussion.....	175
1. <i>Scaphoideus titanus</i> n'est pas un phloémophage strict .....	175
2. Les mâles et les femelles n'ont pas le même comportement alimentaire.....	176
3. Apport de ces connaissances dans l'épidémiologie de la FD.....	177
<b>Conclusion .....</b>	<b>178</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>183</b>
<b>Liste des publications en lien avec la thèse .....</b>	<b>215</b>

# **INTRODUCTION**

## A. Contexte de l'étude

La "révolution néolithique" dans le croissant fertile a vu naître le début de la domestication des plantes et des animaux, et donc de l'agriculture il y a plus de 10 000 ans (Zeder 2009). Depuis, les productions agricoles ont été l'objet d'assauts incessants de la part d'une multitude de bioagresseurs (insectes, pathogènes, adventices). L'Homme n'a alors eu cesse, jusqu'à l'heure actuelle, de lutter contre les ennemis de ses cultures. Ainsi, on estime à l'heure actuelle que les pertes potentielles dues aux organismes nuisibles aux cultures varient en moyenne de 50 à 80 % selon les cultures et que grâce à cette lutte les pertes sont de l'ordre de 25 à 40 % (Oerke 2006). Ces valeurs moyennées ne doivent pas faire oublier qu'il existe de fortes disparités entre les pays du Nord et ceux du Sud.

Si l'utilisation des pesticides permet de limiter l'impact des ennemis des cultures, leur utilisation a des conséquences écologiques et économiques importantes. On peut citer l'apparition de résistance de la part des parasites animaux et végétaux (Powles 2008; van den Bosch & Gilligan 2008; Hazarika *et al.* 2009), la résurgence ou l'apparition de nouveaux bioagresseurs (Hardman *et al.* 1991; Hazarika *et al.* 2009), la destruction des auxiliaires (Croft & Brown 1975; Desneux *et al.* 2007) et l'impact sur les espèces non cibles, dont l'homme (Coats 1994; Elbaz *et al.* 2009). De plus, malgré une nette hausse de l'utilisation de pesticides en agriculture, les pertes de rendements de cultures agricoles n'ont pas globalement diminué de manière significative depuis 40 ans (Oerke 2006).

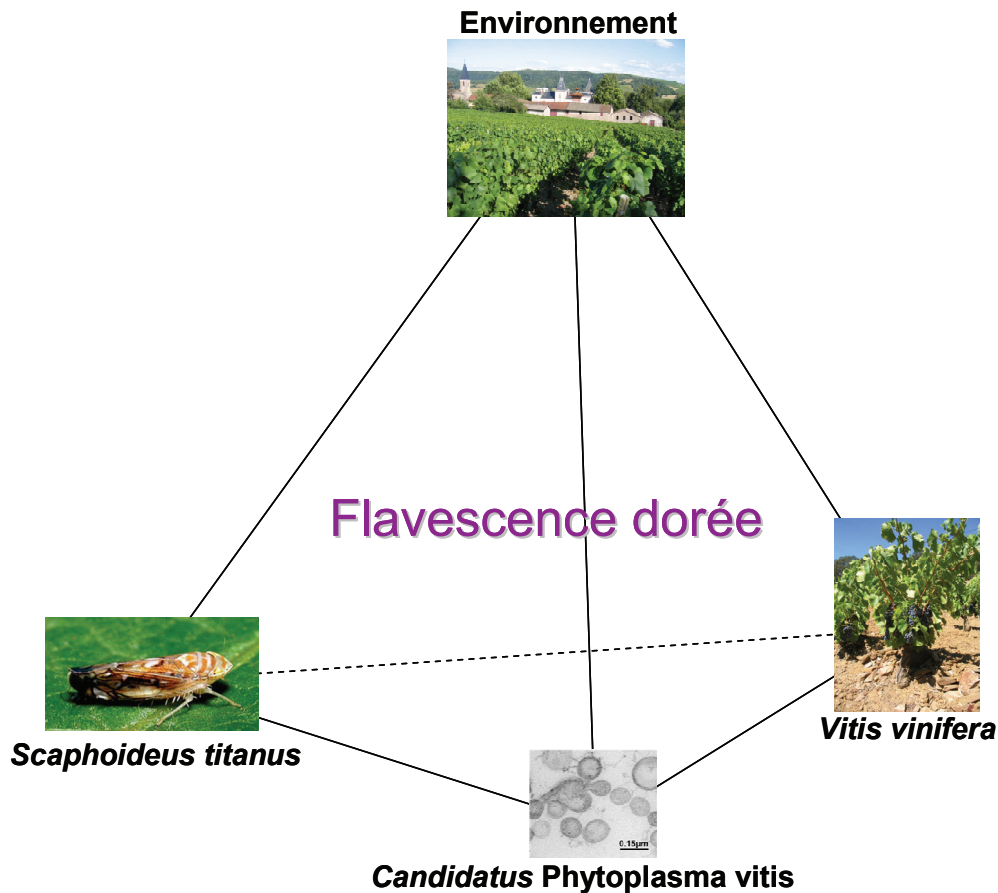
L'impact environnemental de l'utilisation des pesticides est de plus en plus mal perçu par la population et est à l'origine de politiques agronomiques dites "durables". Cette prise de conscience se traduit par exemple par la mise en place du "paquet pesticides" au niveau européen qui a pour objectif de faire évoluer les autorisations de produits phytosanitaires pour rendre leur utilisation "compatible avec le développement durable" (Grosman 2009a) ou du plan "Ecophyto 2018" en France qui vise à réduire de 50 % l'utilisation des pesticides dans l'agriculture, mais également dans les zones non agricoles d'ici 2018. Ce plan national a pour but de réduire l'usage des produits phytosanitaires et de limiter l'impact de leur utilisation. Cette décision s'accompagne, outre de la diminution de la quantité de pesticides utilisés, du retrait de certaines molécules actives. Ainsi, une trentaine de substances utilisées en vigne ont été retirées au cours des 3 dernières années ou sont en cours de retrait (Grosman 2009b). Les retraits de substances, sans produits de substitution efficaces, peuvent s'accompagner de l'apparition de nouvelles problématiques sanitaires ou de l'aggravation de situations auparavant maîtrisées. Ainsi, le retrait de l'arsénite de sodium, destiné à lutter contre les

maladies du bois, s'est soldé par une forte augmentation de l'incidence de l'esca et du black dead arm en vignoble (Fussler *et al.* 2008). Quoi qu'il en soit, la protection des cultures devra recourir à une utilisation parcimonieuse des méthodes de contrôle classiques, faire davantage de prophylaxie et/ou utiliser des méthodes alternatives. Cette nouvelle approche de la lutte contre les ennemis des cultures nécessite pour être efficace une mise en place plus rigoureuse que l'emploi systématique et répété de molécules à large spectre. Cela nécessite de bien connaître la biologie et l'écologie des organismes nuisibles que l'on souhaite contrôler. Il est donc indispensable d'augmenter nos connaissances sur les parasites des cultures et que celles-ci soient transmises à ceux qui protègent les cultures, les agriculteurs.

La compréhension de l'épidémiologie des maladies "classiques" est un processus long et complexe et se complique lorsqu'on étudie le cycle des maladies vectées, c'est-à-dire transmises d'hôte à hôte par un vecteur. Le système "vection" présente une complexité supérieure au classique triangle de la pathologie : hôte sensible, pathogène, environnement favorable (Parry 1990). En effet, le triangle, avec le vecteur en nouvel acteur, devient un trièdre, ce qui augmente les interactions possibles au sein du système. Si les relations vecteur-pathogène sont des composantes importantes de l'épidémiologie des maladies vectées, les relations alimentaires entre vecteur et plante, la capacité du phytoplasme à se développer dans la plante et à être transmis par des insectes sont aussi des étapes critiques dans la création d'un système plante-pathogène-insecte vecteur. Une fois que le parasite est adapté à une nouvelle plante hôte et/ou à un insecte vecteur, il peut se répandre dans la population de plantes hôtes. Le passage du pathogène d'un hôte sain à un hôte infecté par le vecteur dépend d'une séquence d'évènements définis (Perring *et al.* 1999). La connaissance des relations entre les éléments du système : plante(s) hôte(s), pathogène et vecteur(s) est donc essentielle pour comprendre l'épidémiologie des maladies vectées et d'ainsi pouvoir appliquer les meilleures stratégies possibles pour lutter contre elles.

La Flavescence dorée (FD) est l'une des plus récentes et plus graves maladies à laquelle doit faire face la viticulture européenne. Elle affecte la vigne cultivée, *Vitis vinifera*, et résulte de l'association d'un phytoplasme et d'un insecte vecteur, la cicadelle *Scaphoideus titanus* (Fig. 1). L'extension des foyers de maladies au sein du vignoble est très certainement liée à l'activité comportementale du vecteur. La connaissance des phénomènes de dispersion des populations de *S. titanus* est donc un élément indispensable pouvant permettre une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la FD en vignoble. Cette compréhension passe par la

connaissance du mécanisme de choix de la plante hôte de cet insecte et de l'incidence de ce choix sur la fitness de la descendance.



**Figure 1.** Pathosystème de la Flavescence dorée.

Ce travail de thèse a pour objectif premier d'éclairer la biologie et l'écologie de *S. titanus* dans le but de mieux appréhender l'épidémiologie de la Flavescence dorée. Les résultats présentés ont pour but d'enrichir les connaissances générales sur le fonctionnement des relations insectes vecteurs / plantes hôtes, et de manière plus appliquée d'apporter des éléments afin de lutter plus efficacement contre cette maladie et ce avec la pression la plus faible possible sur l'environnement.

## B. La vection

En se basant sur leur mode de dispersion, on peut classer les maladies microbiennes en deux grandes catégories. La première est celle des pathogènes dont la propagation de plante à plante se fait sans l'aide d'un autre organisme, la seconde regroupe les organismes dont la transmission d'un hôte à un autre est réalisée obligatoirement par l'intermédiaire d'un vecteur. Dans ce mémoire, nous utilisons le terme "vection", défini comme la transmission d'un agent pathogène par un organisme pluricellulaire de manière obligatoire. En effet, certains pathogènes peuvent être disséminés occasionnellement par des vecteurs sans que cela soit indispensable à leur dissémination (Herrbach *et al.* 2011). C'est par exemple le cas de l'agent responsable de la pourriture grise, le champignon *Botrytis cinerea* (Helotiales, Sclerotiniaceae), qui ne nécessite pas nécessairement l'intervention d'un autre organisme pour coloniser de nouveaux sites, bien que le transport de spores de grappe en grappe par le papillon ravageur *Lobesia botrana* (Lepidoptera, Tortricidae) ait été décrit (Fermaud & Lemenn 1992).

Les organismes phytopathogènes transmis par vection sont des eucaryotes (champignons), des procaryotes (bactéries et mollicutes<sup>1</sup>), ainsi que des virus (Tab. 1). Les vecteurs animaux sont tous des invertébrés et sont présents principalement parmi les arthropodes et plus particulièrement parmi les acariens et les insectes (Tab. 1). La vection a un rôle très important en phytopathologie, notamment concernant la transmission des virus. En effet, de nombreux virus affectant les animaux sont transmis d'hôte à hôte sans vecteur, car la mobilité des animaux et les contacts entre individus permettent une transmission directe (sans vecteur) efficace (Donovan 2004). Les plantes, au contraire, sont immobiles et la transmission directe de plante à plante se limite principalement à une transmission verticale par l'intermédiaire des graines et horizontale via le pollen (Mink 1993). La grande majorité des phytovirus nécessite donc un vecteur afin d'assurer leur dissémination (Ng & Falk 2006).

---

<sup>1</sup> La classe des Mollicutes regroupe les bactéries sans parois, dont les phytoplasmes, les spiroplasmes et les mycoplasmes.



Tableau 1. Principaux ordres et familles d'insectes vecteurs de pathogènes de plantes.

Ordre	Famille	Exemples				
		Catégories principales d'agents pathogènes vectés	Vecteur	Pathogène	Hôte	Référence
Hemiptera	Aleyrodidae	Virus	<i>Bemisia tabaci</i>	Cassava mosaic geminivirus (virus)	<i>Manihot esculenta</i>	Patil & Fauquet 2009
	Aphidoidea	Virus	<i>Myzus persicae</i> , <i>Brevicoryne brassicae</i>	Cauliflower mosaic virus (virus)	Brassicaceae	Moreno et al. 2005
	Cicadellidae	MLOs et virus	<i>Dalbulus maidis</i>	<i>Spiroplasma kunkelii</i> (spiroplasme)	<i>Zea sp.</i>	Ebbert & Nault 2001
	Fulgoroidea	MLOs et virus	<i>Hyalesthes obsoletus</i>	<i>Candidatus</i> Phytoplasma solani (phytoplasme)	Solanaceae, <i>Vitis vinifera</i>	Sharon et al. 2005
	Membracidae	Virus	<i>Micrutalis maleifera</i>	Tomato pseudo-curly top virus (virus)	<i>Solanum lycopersicum</i>	Briddon et al. 1996
	Plesmatidae	Virus	<i>Plesma quadratum</i>	Beet leaf curl rhabdovirus (virus)	<i>Beta spp.</i>	Korcz et al. 1998
	Coccidae	Virus	<i>Parthenolecanium corni</i>	Grapevine leafroll-associated virus-1 et -3 (virus)	<i>Vitis vinifera</i>	Sforza et al. 2003
	Pseudococcidae	Virus	<i>Dysmicoccus brevipes</i> , <i>Planococcus citri</i> , <i>P. ficus</i>	Banana streak OL (badna)virus (virus)	<i>Musa spp.</i>	Meyer et al. 2008
	Psyllidae	MLOs et virus	<i>Cacopsylla pruni</i>	<i>Candidatus</i> Phytoplasma prunorum (phytoplasme)	<i>Prunus spp.</i>	Marcone et al. 2010
	Thysanoptera	Thripidae	Virus	<i>Frankliniella occidentalis</i>	Tomato spotted wilt virus (virus)	Asteraceae, Solanaceae
Coleoptera	Chrysomelidae	Virus et bactéries	<i>Acalymma vittatum</i>	<i>Erwinia tracheiphila</i> (bactérie)	Cucurbitaceae	Mitchell & Hanks 2009
	Scolytidae	Champignon de ligneux	<i>Scolytus sp.</i> & <i>Hylurgopinus rufipes</i>	<i>Ophiostoma ulmi</i> & <i>O. novo-ulmi</i> (champignons)	<i>Ulmus spp.</i>	Webber 1990

## 1. Comment naît une maladie vectée ?

La transmission des pathogènes vectés se déroule en trois étapes : l'acquisition à partir d'un hôte infecté, la rétention au sein du vecteur et l'inoculation à un nouvel hôte (Herrbach *et al.* 2011). Pour qu'une épidémie apparaisse il faut donc que (1) le pathogène infecte l'hôte depuis une autre espèce réservoir grâce un vecteur ou par l'action de l'homme (greffage, blessures mécaniques...), (2) qu'il soit capable de se multiplier dans la plante et de coloniser tout ou partie de son nouvel hôte, (3) qu'il puisse être acquis puis transmis à d'autres individus de la même espèce de plante hôte par un ou plusieurs espèces de vecteurs fréquentant cette espèce de plante. La constitution d'une nouvelle épidémie est dépendante des conditions environnementales qui influent sur de nombreux processus mis en jeu comme la répartition géographique des plantes hôtes et des vecteurs ou la physiologie des différents acteurs du système (Canto *et al.* 2009).

La transmission peut être directe si l'insecte insère le pathogène dans la plante lors de son alimentation, ou indirecte lorsque le pathogène est introduit dans la plante pendant que le vecteur s'alimente, via les fèces par exemple (Mitchell & Hanks 2009).

## 2. Relations entre le vecteur et les autres acteurs de la vection

Pour qu'un vecteur de phytopathogène soit efficient, il doit avoir une vaste gamme de plantes hôtes, être mobile pour localiser de nouvelles plantes hôtes et de nouveaux habitats, des pièces buccales adaptées pour acquérir et transmettre le pathogène. Le taux de transmission de pathogènes vectés varie avec de nombreux paramètres écologiques tels que la densité de vecteur, les espèces de vecteurs et d'hôtes, les souches de pathogènes et les conditions climatiques (Daugherty *et al.* 2010).

La transmission de pathogènes par l'intermédiaire d'insectes vecteurs est évidemment liée à la dynamique des populations du vecteur. Ainsi, le taux de transmission du pathogène est corrélé à la taille de la population du vecteur (Jeger *et al.* 2004). Donc, tous les facteurs influençant la taille de la population de vecteurs affectent le taux de transmission du pathogène. La taille d'une population est déterminée par le rapport entre les taux de naissance et de mortalité. Or, ce rapport n'est pas toujours le même chez les populations de vecteurs sains et infectieux. En effet, la présence de pathogène peut avoir des effets délétères, ou au contraire bénéfiques, en diminuant ou augmentant les taux de naissance ou de mortalité (Maramorosch & Jensen 1963; Purcell 1982; Sisterson 2009).

Les pathogènes vectés n'ont pas que des effets directs sur la fitness de leur vecteur mais peuvent aussi avoir des effets indirects, notamment en modifiant leur comportement. Ainsi, le moustique *Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) passe plus de temps à s'alimenter et visite plus d'hôtes lorsqu'il est porteur de *Plasmodium falciparum* (Haemosporida, Plasmodiidae) que lorsqu'il est sain (Anderson *et al.* 2000). Les aleurodes *Bemisia tabaci* (Hemiptera, Aleyrodidae) porteurs du "Cotton leaf curl virus" choisissent préférentiellement de s'établir sur des plants de coton sains plutôt qu'infectés par ce même virus (Mann *et al.* 2009). Cela augmente la capacité de propagation du virus au sein de la population de cotonniers puisque la probabilité qu'une plante saine soit infectée est supérieure à celle d'une plante déjà infectée. Hormis la préférence des vecteurs pour les plantes saines ou infectées, les mouvements de plante à plante sont aussi un facteur important dans la prolifération d'un agent pathogène (Sisterson 2008). La nature des effets du pathogène sur le vecteur varie selon que le pathogène se propage ou non dans le vecteur. Dans le premier cas, le pathogène pourra avoir des effets directs ou indirects sur le vecteur, alors que dans le second ils ne pourront être qu'indirect (Sisterson 2009).

La polyphagie du vecteur est aussi un paramètre important, car en plus de permettre de propager un agent pathogène à différentes espèces d'hôtes, elle permet également au vecteur de survivre en l'absence de la plante hôte du pathogène et de pouvoir persister jusqu'à l'apparition à nouveau de la plante hôte. Ainsi, le cixide *Pentastiridius leporinus*, vecteur du phytoplasme du stolbur et de la protéobactérie  $\gamma$ -3, tous deux responsables du syndrome des basses richesses de la betterave sucrière, est capable dans la même génération de changer d'hôte (Bressan *et al.* 2009). Au cours de l'été, les femelles pondent à proximité des racines de betterave sucrière où les larves se développent et acquièrent les agents pathogènes. Au cours de l'automne, les betteraves sont récoltées et les larves survivent dans le sol en diapause. Après la culture de betterave, blé et orge d'hiver sont classiquement semés. A leur sortie de diapause, les larves reprennent leur développement sur les racines de céréales jusqu'à ce qu'elles deviennent adultes puis migrent vers les champs de betterave alentours où elles pourront inoculer les pathogènes. L'âge du vecteur peut aussi être un élément déterminant. C'est le cas des tospovirus qui ne peuvent être acquis que durant les premiers stades larvaires de thrips (Whitfield *et al.* 2005).

Les phénomènes d'agrégation du vecteur ont aussi une influence sur la dynamique de propagation des épidémies en augmentant la proportion de vecteurs infectés. La proximité des sites d'alimentation de vecteurs infectieux et sains sur un même hôte sain peut permettre

l'acquisition de l'agent pathogène par les vecteurs non-porteurs depuis les infectieux (Labuda *et al.* 1993).

La répartition des agents pathogènes au sein de la plante est rarement homogène et la probabilité du vecteur d'être en contact avec le pathogène est donc variable selon l'endroit où il se nourrit sur celle-ci. La concordance entre la distribution du pathogène dans la plante et les sites d'alimentation du vecteur est un facteur caractérisant l'efficacité de la transmission. Ainsi, la cicadelle *Draeculacephala minerva* qui s'alimente à la base des pieds de luzerne se trouve être un meilleur vecteur que la cicadelle *Graphocephala atropunctata* qui se nourrit au niveau de l'apex où la concentration en la bactérie *Xylella fastidiosa*, responsable de la maladie de Pierce, est cent fois plus faible (Daugherty *et al.* 2010).

Outre la synchronisation spatiale, la synchronisation temporelle du vecteur avec le pathogène vecté est également essentielle. Si le vecteur s'alimente sur un hôte porteur alors que les formes transmissibles du parasite ne sont pas accessibles, alors il n'y aura pas d'acquisition, donc de transmission à un nouvel hôte, possible. La filariose de Bancroft en est un bon exemple. Plusieurs espèces de moustiques sont vectrices du nématode *Wuchereria bancrofti* responsable de cette maladie humaine, dont seules les microfilaries (larves du 1<sup>er</sup> stade) peuvent être acquises par le vecteur. Ces microfilaries ont une localisation variable selon le moment de la journée car on les retrouve le jour dans la circulation profonde et la nuit au sein de la circulation périphérique. Shriram *et al.* (2005) ont montré qu'un des moustiques vecteurs *Ochlerotatus niveus* présente deux périodes de pics de piqûres, 4-6 h et 17-18 h, correspondant aux pics de présence des microfilaries dans les vaisseaux sanguins périphériques.

Les propriétés du pathogène peuvent faire varier l'efficacité de son acquisition. Ainsi, la plupart des pathogènes existent en tant qu'un complexe de différentes souches ayant des caractéristiques différentes telles que la virulence et la transmissibilité. De plus, la composition du milieu de l'hôte dans lequel se développe le pathogène influence la régulation de son génotype avec des conséquences sur son phénotype et sa capacité à être transmissible par son vecteur (Killiny & Almeida 2009). La diversité existant au sein des différents acteurs: souches de pathogènes, espèces de vecteurs et d'hôtes contribue à générer de la variabilité dans la prévalence des maladies.

Les facteurs climatiques influencent les relations entre les différents constituants du système hôte / pathogène / vecteur. La température, par exemple, peut faire varier l'efficacité de la transmission notamment en affectant la multiplication du pathogène dans l'hôte source et le vecteur, l'installation du pathogène dans son nouvel hôte, et le comportement du vecteur.

Le climat peut également modifier l'épidémiologie de la maladie en influant sur l'abondance et les performances des vecteurs, ainsi que sur le rétablissement des hôtes infectés. La teneur en CO<sub>2</sub> peut aussi modifier l'activité des vecteurs. C'est ainsi qu'une teneur plus élevée en ce gaz augmente, chez les moustiques du genre *Culex*, leur capacité de détection du nonanal, composé volatil émis par leurs hôtes (Syed & Leal 2009). De plus, les changements climatiques pourront être source de modification des pathosystèmes existants en permettant la modification des aires de distribution des maladies vectées, l'apparition de maladies et/ou de vecteurs exotiques, de nouvelles associations pathogène / hôte / vecteur... (Canto *et al.* 2009).

Tous les facteurs énoncés (âge, température, souche, plante...) se croisent et leurs interactions sont susceptibles de faire varier l'épidémiologie de la maladie vectée.

### 3. Propriétés des pathogènes vectés

Un des principaux paradigmes régissant la classification des pathogènes vectés est lié au temps de rétention (durée pendant laquelle le vecteur reste inoculant) et à sa capacité à se multiplier dans le vecteur (Lett *et al.* 2001; Ng & Falk 2006; Hogenhout *et al.* 2008a; Herrbach *et al.* 2011). Les pathogènes non-persistants ne sont retenus que quelques minutes au plus par le vecteur, les semi-persistants peuvent encore être transmis quelques heures ou jours après l'acquisition mais sont perdus lorsque survient une mue, enfin les persistants sont capables de subsister très longtemps dans le vecteur, généralement jusqu'à sa mort, et ne sont pas affectés par la mue. Les deux premières catégories (non- et semi-persistants) sont qualifiées de non circulantes car leur localisation se limite aux pièces buccales et à la partie antérieure du système digestif, contrairement aux pathogènes persistants qui traversent la barrière abdominale, gagnent l'hémolymphe puis les glandes salivaires. Ces caractéristiques différentes font que pour les non-circulants le pathogène peut être inoculé immédiatement, alors qu'un temps de latence correspondant au temps nécessaire pour gagner les glandes salivaires existe chez les pathogènes circulants. Cette dernière catégorie peut être divisée en 2 sous-catégories, les multipliants et les non-multipliants, selon la capacité du pathogène à se multiplier ou non dans le vecteur.

La spécificité de transmission du pathogène est un élément très important de l'épidémiologie des maladies vectées (Herrbach *et al.* 2011). Un pathogène peut être transmis spécifiquement par une seule espèce de vecteur (Andret-Link *et al.* 2004) ou par plusieurs (Redak *et al.* 2004). Dans ce dernier cas, tous les vecteurs ne transmettent pas le pathogène

avec la même efficacité (Bar-Joseph *et al.* 1989). La notion de spécificité s'applique aussi aux interactions entre les pathogènes et les espèces d'hôtes. Certains parasites colonisent une grande variété d'hôtes quand d'autres ont une gamme d'hôte restreinte. Ainsi, le "tomato spotted wilt virus" peut infecter plus de 1000 espèces de plantes (Parrella *et al.* 2003) alors que le spiroplasma *Spiroplasma kunkelii* est limité au maïs cultivé, à un hybride et trois espèces de téosintes (plantes ancestrales du maïs) très proches (Tsai & Miller 1995). Les pathogènes généralistes n'infectent pas toutes leurs plantes hôtes avec la même virulence (Malmstrom *et al.* 2005). La présence d'hôtes peu sensibles a pour un pathogène généraliste deux effets distincts : un "effet de dilution" en "noyant" les hôtes les plus sensibles dans une "mer" d'hôtes peu sensibles, et un "effet de réservoir" en permettant la subsistance du pathogène en l'absence d'hôtes très sensibles (LoGiudice *et al.* 2003).

## C. Phytoplasmoses

### 1. Généralités

L'agriculture est confrontée à une augmentation des maladies vectées. Parmi celles-ci les phytopathologies causées par des phytoplasmes constituent une sérieuse menace pour un grand nombre de cultures (Strauss 2009). En effet, les phytoplasmes sont responsables de plusieurs centaines de phytopathologies à travers le monde, incluant des maladies de plantes de grande valeur économique dont la plupart n'ont été identifiées que très récemment (pour revues : Lee *et al.* 2000; Bertaccini & Duduk 2009). Ainsi, les phytoplasmoses représentent le principal facteur limitant la production d'un grand nombre de cultures. Le phytoplasme associé aux jaunisses des *Aster* (aster yellows) est par exemple le responsable de pertes économiques importantes d'un grand nombre de cultures (salade, carotte, céleri, glaïeul, hortensia...) en Amérique du Nord et en Europe (Lee *et al.* 2000). A titre d'exemple, rien qu'en 2001, les phytoplasmoses des pommiers ont causé des pertes estimées à 25 millions d'euros en Allemagne et 100 millions en Italie (Strauss 2009).

En dépit de l'utilisation massive d'insecticides destinés à lutter contre les vecteurs, l'efficacité du contrôle chimique n'est pas satisfaisante et les phytoplasmoses continuent de constituer des problèmes conséquents dans plusieurs parties du monde (Firrao *et al.* 2007). La grande importance de ces maladies et l'impossibilité de pouvoir lutter directement contre elles font que les mouvements d'un grand nombre d'espèces de plantes affectées sont perturbés par

les réglementations de quarantaine internationale. Il existe cependant une exception où la présence de phytoplasme est source de satisfaction pour les producteurs. En effet, les poinsettias (*Euphorbia pulcherrima*) infectés par des phytoplasmes sont caractérisés par une prolifération des bourgeons axillaires et un nanisme responsables d'un port buissonnant grandement appréciés des consommateurs (Lee *et al.* 1997).

## 2. Les phytoplasmes

Les phytoplasmes appartiennent à la classe des Mollicutes qui regroupe les micro-organismes bactériens dépourvus de paroi cellulaire, tous parasites d'animaux ou de plantes, dont les spiropasmes et mycoplasmes. La découverte de la nature procaryotique des jaunisses des plantes eu lieu en 1967 (Doi *et al.* 1967). Les organismes responsables de ces jaunisses furent dénommés "Mycoplasma-Like Organism" jusqu'à ce que lui soit substitué le terme de "phytoplasme" en 1994 (Cousin 1995).

Les phytoplasmes sont des bactéries dépourvues de paroi. Ils sont limités par une membrane à trois feuilletts (deux feuilletts denses aux électrons entourant un feuillet clair), à l'intérieur de laquelle on distingue des filaments d'ADN ainsi que des ribosomes (Meignoz *et al.* 1992; Cousin & Boudon-Padieu 2001). Ils se reproduisent dans le phloème des plantes (Lee *et al.* 2000; Christensen *et al.* 2005;) et des insectes piqueurs-suceurs de phloème (Christensen *et al.* 2005; Weintraub & Beanland 2006). Cette nécessité de se répliquer à l'intérieur de cellules végétales et animales est une caractéristique du cycle biologique des phytoplasmes, partagée seulement avec *Spiroplasma citri*, *S. kunkelii* et *S. phoeniceum* (Hogenhout *et al.* 2008b).

L'absence de paroi explique la sensibilité de ces micro-organismes aux variations de pression osmotique et qu'on les retrouve dans les plantes quasi exclusivement dans les tubes criblés où la pression osmotique est de l'ordre de 10 atmosphères (Lepoivre 2003). La très petite taille de leur génome, composé d'un chromosome et de plasmides, ainsi que leur faible nombre de gènes (Tab. 2) font qu'ils ne peuvent pas assurer par eux-mêmes un grand nombre de voies métaboliques essentielles à leur survie (Tab. 2), ce qui fait des phytoplasmes des parasites intracellulaires obligatoires (Christensen *et al.* 2005). Ce génome minimaliste fait des phytoplasmes la plus simple des formes de vies capables de se répliquer de manière autonome (Christensen *et al.* 2005).



**Tableau 2.** Caractéristiques comparées de trois catégories de mollicutes et d'une bactérie *sensu stricto* (*E. coli*). D'après Christensen *et al.* 2005.

Propriétés	Phytoplasmes	Spiroplasmes	Mycoplasmes	<i>Escherichia coli</i>
Hôtes	Plantes et insectes	Plantes, insectes, tiques, crustacés, vertébrés	Mammifères, oiseaux, reptiles, poissons	Animaux
Tissus infectés	Insectes : tous les organes Plantes: phloème	Insectes : tous les organes Plantes: phloème ou en surface	Tractus respiratoire et urogénital, canal alimentaire, glandes mammaires, articulations, yeux	Intestins, tractus urinaire, circulation sanguine, liquide cébrospinal
Localisation	Intracellulaire	Extra- et intracellulaire	Extra- et intracellulaire	Extracellulaire
Taille du génome	530 – 1350 kb	780 – 2200 kb	580 – 1380 kb	4500 – 4600 kb
Nombre de gènes (espèces séquencées)	671 – 754	Non complètement séquencé	484 – 1038	4841 – 5769
Contenu un G + C	25 – 30 %	25 – 30 %	24 – 35 %	50,5 – 50,8 %
Nombre de gènes ARNt	31 – 32	Non complètement séquencé	28 – 37	86 – 89
Nombre d'opérons ARNr	2	1	1 – 2	7
Réplication, transcription et traduction	+	+	+	+
Présence d'une paroi cellulaire	-	-	-	+
<b>Cytosquelette</b>				
Protéines tubuline-like (FtsZ)	-	+	+	+
Protéines actine-like (MreB)	-	+	-	+
Motilité cellulaire	Non connue	Motile	La plupart sont motiles	Motile
Adhésion aux cellules hôtes	Probable	+	+	+
<b>Transport membranaire</b>				
Consommation de sucre et phosphorylation	Non connue	Système de phosphotransférases	Système de phosphotransférases	Système de phosphotransférases
ATPases de type P	5	2	0 - 5	4
Protéines ABC	14	18	15 – 35	87 – 102
Voie de classe 1 pour la translocation transmembranaire de protéines	+ (absence de protéines chaperonnes SecB)	Non connue	+ (absence de protéines chaperonnes SecB)	+
<b>Catabolisme et production d'ATP et de NADH/FADH<sub>2</sub></b>				
Glycolyse	+	+	+	+
Voie de l'arginine dihydrolase	-	+	+	+
Phosphorylation oxydative	-	-	-	+
Cycle de Krebs	-	-	-	+
Voie des pentoses phosphates	-	-	+	+
ATP synthase	-	+	+	+
Conversion du galactose (pour la glycolyse)	-	-	+	+
<b>Anabolisme</b>				
Synthèse <i>de novo</i> des nucléotides purine et pyrimidine	-	-	-	+
Voie de sauvetage des nucléotides	-	+	+	+
Synthèse des acides aminés	-	+/-	-	+
Synthèse des acides gras	-	-	-	+

Les phytoplasmes ne sont pas cultivables et leur classification est principalement basée sur la variabilité des séquences génétiques de l'ARN ribosomique 16S. Ils sont regroupés au sein du genre '*Candidatus Phytoplasma*', le terme "Candidatus" étant propre aux organismes non cultivables *in vitro* (ISCB 2004).



La caractérisation des maladies à phytoplasmes est particulière puisqu'elle ne peut suivre le postulat de Koch qui, en pathologie, permet d'établir la relation causale entre un agent pathogène et une maladie (Lepoivre 2003). Ce postulat comprend quatre étapes : le pathogène doit être présent dans les plantes malades et absent des saines, le pathogène doit pouvoir être isolé et cultivé en milieu stérile, l'inoculation du pathogène en culture doit induire des symptômes caractéristiques dans une plante saine, le pathogène doit pouvoir être isolé depuis des plantes infectées expérimentalement (Kummert & Lepoivre 2003). Or, l'impossibilité de cultiver les phytoplasmes sur un milieu artificiel rend impossible les trois dernières étapes. La transmission de plante malade à plante saine s'effectue dans le cas des phytoplasmoses par greffage (Jarausch *et al.* 1999), multiplication végétative (Lee *et al.* 2000), utilisation d'insectes vecteurs (Weintraub & Beanland 2006) ou par pont de cuscute (*Cuscuta sp.*, Solanales, Cuscutaceae) (Marcone *et al.* 1997; 1999a; Kaminska & Korbin 1999).

### 3. Phytoplasme et vecteur

Tous les vecteurs de phytoplasmes appartiennent à l'ordre des Hémiptères dont la famille des Cicadellidae comporte le plus grand nombre d'espèces (Weintraub & Beanland 2006). Cette spécificité des Hémiptères est sûrement liée à leur comportement alimentaire (Purcell 1982). En effet, les phytoplasmes ne se développant que dans les cellules du phloème, seuls les organismes phloémophages seront susceptibles d'acquérir des phytoplasmes et de pouvoir les inoculer.

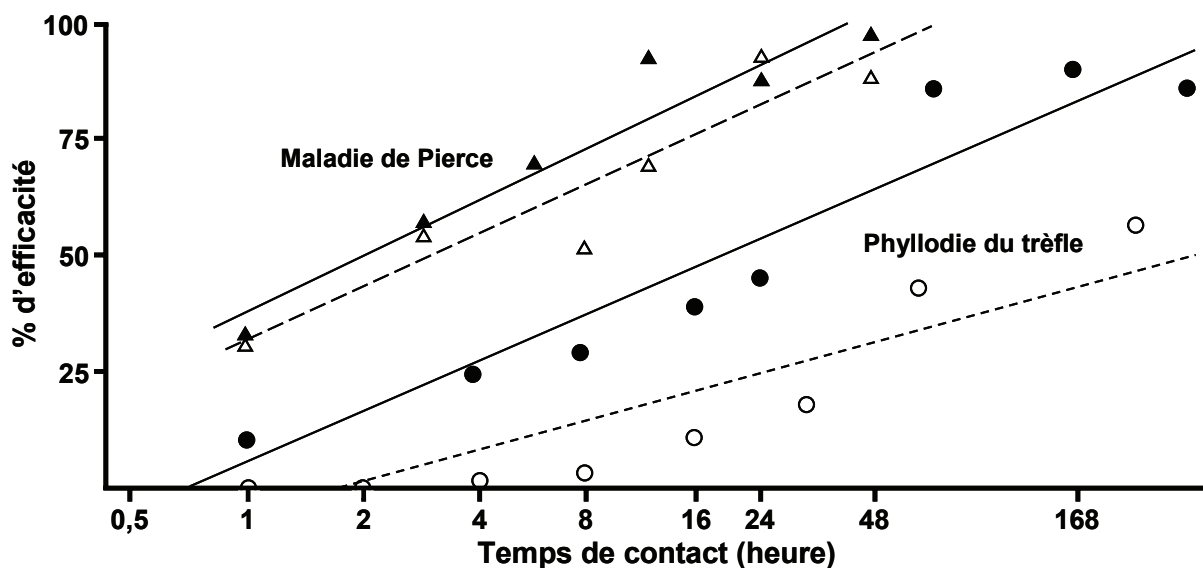
Tous les vecteurs connus de phytoplasmes sont des insectes Hémiptères, (Weintraub & Beanland 2006). Certains phytoplasmes ont un degré élevé de spécificité et ne sont transmis que par une ou quelques espèces de vecteurs (Marcone *et al.* 2010) alors que d'autres peuvent être transmis par un grand nombre de vecteurs différents (Christensen *et al.* 2005). Cette spécificité est sûrement liée à la présence de protéines antigéniques à la surface cellulaire des phytoplasmes qui interagissent avec les microfilaments des muscles intestinaux des insectes et doivent avoir un rôle important dans les processus d'infection et de transmission (Suzuki *et al.* 2006). Le degré de polyphagie des insectes vecteurs est l'élément principal déterminant la gamme de plantes infectées. Par exemple, le phytoplasme de la jaunisse de l'orme américain qui a pour vecteur la cicadelle oligophage *Scaphoideus luteolus* ne colonise que peu de plantes, essentiellement du genre *Ulmus*, alors que les phytoplasmes responsables de la jaunisse nord américaine de l'aster (16SrI-A, -B) ont pu être transmis expérimentalement à

191 espèces de végétaux appartenant à 42 familles, notamment grâce à la cicadelle polyphage *Macrostelus fascifrons* (Lee *et al.* 2000).

La transmission par vecteur peut être divisée en trois phases : l'acquisition, la latence, l'inoculation.

- L'acquisition

Le vecteur peut acquérir l'agent pathogène en s'alimentant sur une plante infectée ou de manière congénitale par transmission transovarienne de la mère à la descendance. La transmission verticale de pathogènes de plantes semble être exceptionnelle, sûrement due au fait que beaucoup de procaryotes pathogènes de plantes le sont aussi pour les vecteurs (Purcell 1982). Il existe cependant quelques observations de transmission de la mère à la descendance chez des psylles (Tedeschi *et al.* 2006) et des cicadelles (Kawakita *et al.* 2000; Hanboonsong *et al.* 2002) mais de manière non systématique. La capacité de transmission transovarienne dépend, en plus, de l'association entre le phytoplasme et le vecteur. Ainsi, le phytoplasme '*Ca. Phytoplasma mali*' peut être transmis à sa descendance par *Cacopsylla pruni*, mais pas par *C. melanoneura* (Tedeschi *et al.* 2006).



**Figure 2.** Pourcentage d'efficacité d'acquisition (symboles pleins) et d'inoculation (symbole ouvert) d'un agent pathogène en fonction du temps de contact entre le vecteur et la plante infectée. D'après Purcell 1982.

L'efficacité de l'acquisition dépend en partie du temps de contact entre l'insecte et la plante infectée. Ainsi, la probabilité de transmettre le pathogène ( $P$ ) augmente avec le temps de contact selon une loi binomiale  $P = 1 - q^n$  (Fig. 2), où  $q$  est la probabilité de ne pas

transmettre et  $n$  est le nombre d'unité de temps de contact (Purcell 1982). Un temps minimal de contact est nécessaire afin d'avoir des transmissions (Purcell 1982).

#### - La latence

Le temps de latence est le temps requis entre l'acquisition du pathogène par le vecteur et sa transmission à une plante. Le temps nécessaire à la circulation et à la multiplication des agents infectieux à l'intérieur du corps du vecteur, en particulier au sein des glandes salivaires, explique la latence observée pour les transmissions du type "circulant, persistant, multipliant". La période de latence varie de 7 à 80 jours en fonction de l'espèce de phytoplasme et de plante hôte (Hogenhout *et al.* 2008b).

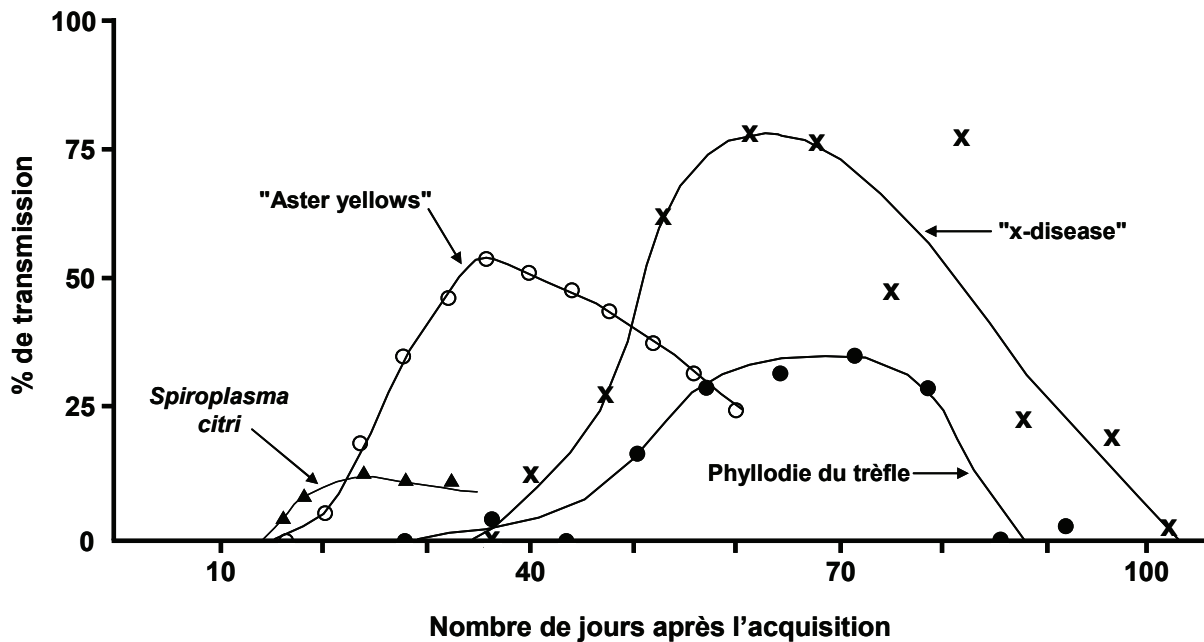
#### - L'inoculation

Comme pour l'acquisition, l'efficacité de l'inoculation est dépendante du temps de contact entre le vecteur infectieux et la plante saine et suit la même loi binomiale (Fig. 2) (Purcell 1982). En revanche, les deux efficacités ne sont pas forcément liées. En général, le temps de contact nécessaire à l'inoculation du phytoplasme est inférieur à celui nécessaire à son acquisition (Purcell 1982).

Les effets de la présence de phytoplasmes dans le vecteur sont variables. Ils peuvent soit être délétères (Bressan *et al.* 2005a; 2005b; Malagnini *et al.* 2010), soit au contraire apporter des gains de fitness, notamment en termes de longévité et de fertilité (Purcell 1988; Beanland *et al.* 2000; Ebbert & Nault 2001). L'insecte vecteur étant pour le pathogène le seul moyen de locomotion d'une plante à une autre, une trop grande pathogénicité du phytoplasme vis-à-vis du vecteur freinerait son expansion. C'est ainsi que cette pathogénicité diminue avec l'ancienneté de la relation pathogène-vecteur (Madden & Nault 1983; Ebbert & Nault 2001; Elliot *et al.* 2003). Il semblerait que l'adaptation des vecteurs au phytoplasme qu'ils transmettent soit liée à une plus faible quantité de phytoplasme au sein de leur organisme (Hogenhout *et al.* 2008b).

Le sexe et l'âge du vecteur a également une importance dans l'efficacité de la transmission des phytoplasmoses puisqu'il a été montré chez certaines espèces que les femelles sont de meilleurs vecteurs que les mâles (Swenson 1971; Beanland *et al.* 1999; Garcia-Chapa *et al.* 2005). En général, les premiers stades larvaires se révèlent moins efficaces, voire incapables d'acquérir ou d'inoculer des procaryotes que les larves âgées et les

adultes (Swenson 1971; Chiykowski 1973). Cela peut être expliqué par la petite taille de leurs pièces buccales qui ne peuvent explorer les tissus les plus en profondeur (Naito 1976; Tavella & Arzone 1993). L'efficacité de la transmission par des insectes infectieux diminue au cours du temps (Fig. 3) (Purcell 1982). Cette diminution peut être expliquée comme une conséquence du vieillissement de l'insecte, d'effets délétères du pathogène sur son vecteur, d'une diminution du titre en pathogène dans le vecteur (Purcell 1982).



**Figure 3.** Pourcentage d'efficacité de transmission de différents agents pathogènes en fonction du nombre de jours après son acquisition par le vecteur. D'après Purcell 1985.

#### 4. Phytoplasme et plante hôte

Les phytoplasmes sont présents dans la plupart des organes des plantes via le réseau phloémien. La distribution des phytoplasmes au sein de la plante hôte est irrégulière et montre des fluctuations saisonnières. Les teneurs en phytoplasmes semblent liées à l'activité photosynthétique puisqu'elles sont, en général, les plus faibles au niveau des organes puits (racines), modérées dans les bourgeons, et les plus élevées dans les organes sources que sont les feuilles matures (Christensen *et al.* 2004; Bertaccini & Duduk 2009). Hormis le cas de la jaunisse létale du cocotier (Cordova *et al.* 2003), aucun phytoplasme n'a été détecté dans des graines, sûrement à cause de l'absence d'une connexion directe des vaisseaux de la sève aux graines (Christensen *et al.* 2005). Cependant, si de l'ADN a été découvert dans des embryons de cocotier, la germination n'est pas affectée et aucune trace de phytoplasme n'a été

découverte dans les plantules (Nipah *et al.* 2007). Il ne semble donc pas qu'il puisse y avoir une transmission verticale de phytoplasme chez les végétaux. Chez les végétaux ligneux, les phytoplasmes subsistent l'hiver dans les organes lignifiés et les bourgeons (Jarausch *et al.* 1999; Watherwoth & Mock 1999).

Les tubes criblés, de par leur cytoplasme réduit, constituent une faible opposition aux déplacements des phytoplasmes et favorisent ainsi leur prolifération dans la plante (Christensen *et al.* 2005). Cependant, la sève phloémienne ne contient pas d'hexoses phosphorylés, ni de nucléotides puisque les cellules des tubes criblés sont énucléées. Ces éléments sont indispensables aux phytoplasmes qui sont incapables de les synthétiser (Tab. 2). Il est supposé que les phytoplasmes seraient capables de détourner une partie du contenu des cellules compagnes au sein des tubes criblés et pourraient modifier la structure des plasmodesmes par un processus encore inconnu (Christensen *et al.* 2005). Cette hypothèse s'appuie sur la présence de phytoplasmes dans le cytoplasme des cellules compagnes (Rudzinska-Langwald & Kaminska 1999) alors que les plasmodesmes sont trop étroits pour permettre leur passage (6 à 7 fois plus petit que les ribosomes des phytoplasmes) (Roberts & Oparka 2003).

Les symptômes des plantes infectées sont variés : "balais de sorcière", prolifération, altération des fleurs (phyllodie, virescence), jaunissement du feuillage, dépérissement... (Cousin & Boudon-Padiou 2001). Les jaunisses à phytoplasmes se distinguent des jaunisses à virus par une stérilité ou une virescence des fleurs et par une prolifération des pousses (Caudwell 1983). Les symptômes induits chez les plantes infectées varient selon le phytoplasme et le stade de l'infection. Ils peuvent se développer dès 7 jours après l'inoculation, mais peuvent se manifester bien plus tard (jusqu'à 2 ans) en fonction de l'espèce de phytoplasme et de plante hôte (Hogenhout *et al.* 2008b). Ces longs délais entre l'inoculation et les premiers symptômes sont une des caractéristiques des phytoplasmoses qui rende si difficile la lutte contre elles.

Les symptômes causés par les phytoplasmes traduisent la perturbation de l'équilibre hormonal, comme par exemple le niveau de cytokinines (Davey *et al.* 1981), une modification du contenu et/ou un dérèglement du fonctionnement du phloème (Lee *et al.* 2000). Les phytoplasmes perturbent directement la translocation des différents éléments au sein du phloème en bouchant les tubes criblés lorsqu'ils se sont activement multipliés, mais aussi indirectement, car même à une faible concentration d'agents pathogènes, une plus faible translocation a été observée (Bertaccini & Duduk 2009). La perturbation du fonctionnement

du phloème semble être le signe d'une infection massive et s'accompagne de dépôts de callose, suivi d'une nécrose et d'un collapsus des tubes criblés (Lee *et al.* 2000). Les conséquences d'un tel dysfonctionnement sont, entre autres, une diminution de l'activité photosynthétique, l'accumulation de produits de la photosynthèse dans les feuilles matures et la diminution de l'amidon dans les tissus "puits" (Christensen *et al.* 2005). Concernant la photosynthèse, le photosystème II est particulièrement inhibé, ainsi que la synthèse de chlorophylle et de caroténoïdes (Bertamini & Nedunchezian 2001). Les niveaux élevés de glucides dans les feuilles "sources" sont responsables de l'inhibition rétroactive de la photosynthèse causant des chloroses (Lepka *et al.* 1999; Bertamini & Nedunchezian 2001). Les phytoplasmes ne possédant pas d'enzyme permettant l'utilisation du saccharose (Oshima *et al.* 2004) doivent utiliser le fructose ou le glucose comme source énergétique. Cette hypothèse est corroborée par l'augmentation du niveau d'expression de la saccharose synthase dans les tissus infectés, augmentant la quantité de sucres simples pour le phytoplasme (Hren *et al.* 2009b). Une réduction de la concentration des protéines totales solubles a aussi été mise en évidence (Bertamini & Nedunchezian 2001). La perturbation, par le phytoplasme, des voies métaboliques de la plante impliquées dans l'antixénose, telle que celle de l'acide jasmonique (Hogenhout *et al.* 2008b), pourrait être impliquée dans l'adaptation de certains vecteur à des plantes non hôtes sans que cela ait un coût en matière de survie (Purcell 1988). Certaines plantes peuvent être infectées par un phytoplasme sans pouvoir ensuite être une source d'inoculum et sont donc des "dead-end hosts" pour le phytoplasme. On peut citer l'exemple de la vigne (*Vitis vinifera*) pour le phytoplasme du stolbur (Johannesen *et al.* 2008) et du cyclamen (*Cyclamen persicum*) pour les phytoplasmes des groupes 16Sr-IB et -IC (Alma *et al.* 2000). Une faible concentration en phytoplasmes et/ou une différence de comportement alimentaire du vecteur pourraient expliquer l'existence de ces "dead-end hosts" (Weintraub & Beanland 2006).

Peu de choses sont connues sur la virulence des phytoplasmes. Aucun gène de virulence semblable à ceux existant chez les bactéries n'a été découvert et le manque d'un grand nombre de voies métaboliques (Tab. 2) laisse supposer que la virulence serait indirecte via la consommation de matériel provenant des cellules hôtes (Bertaccini & Duduk 2009). Cependant, un facteur de virulence a été trouvé chez une souche de jaunisse de l'oignon (Hoshi *et al.* 2009). Il permet au phytoplasme d'inhiber les voies de biosynthèse et de signalisation de l'auxine, ce qui inhibe la dominance apicale et cause la prolifération des bourgeons axillaires, provoquant un nanisme et un port buissonnant. Ce facteur de virulence est transporté par le phloème et se retrouve également dans des cellules non-phloémiennes. La

conséquence de son action est la production importante de jeunes pousses qui sont attractives pour les insectes vecteurs et qui permettraient ainsi d'accroître les capacités de dispersion du phytoplasme (Hoshi *et al.* 2009).

Si dans la grande majorité des cas la présence de phytoplasmes est préjudiciable à la plante, quelques végétaux semblent être résistants ou tolérants et ne manifestent pas ou peu de symptômes. Ainsi, la présence de phytoplasmes augmente la concentration de polyphénols dans les tissus infectés (Musetti *et al.* 2000) et peut aussi induire la production de protéines de la famille Hsp70, dont certaines sont impliquées dans les réponses à des stress biotiques (Carginale *et al.* 2004). La dégénérescence des tubes criblés peut aussi représenter une stratégie de défense de la part de la plante en empêchant la diffusion des phytoplasmes et pourrait être une explication à l'apparition de symptômes localisés et aux phénomènes de rétablissement chez la vigne (Credi 1994). D'autres systèmes de protection sont activés chez les plantes infectées, comme la production et/ou l'augmentation de protéines de défense, de composés phénoliques, de peroxydes d'hydrogène et de divers métabolites secondaires (Junqueira *et al.* 2004; Musetti *et al.* 2007; Ambrozic-Dolinsek *et al.* 2008). L'efficacité des systèmes mis en place par la plante pour se défendre est variable selon la plante hôte mais aussi selon la souche de phytoplasme. En effet, toutes les souches d'un même phytoplasme n'ont pas la même capacité de colonisation de la plante hôte et il existe aussi des phénomènes de compétition entre souches lorsque plusieurs se trouvent dans la même plante hôte (Sinclair & Griffiths 2000). Cette compétition semble en partie liée à la vitesse de colonisation et/ou de déplacement dans la plante.

## 5. Phytoplasmoses et vigne

Les jaunisses de la vigne sont un complexe de maladies graves répandues dans le monde entier et causées par différents phytoplasmes. Les ceps infectés montrent une incurvation et un enroulement des feuilles, accompagnés d'un jaunissement ou d'un rougissement, d'un non aoûtement des bois et d'un dessèchement des grappes et inflorescences. On retrouve ces pathologies en Europe, au Moyen-Orient, en Australie et en Amérique (Tab. 3). Hormis la FD et le Bois Noir, ces maladies sont très peu connues et l'on ne connaît pas les vecteurs en vignoble de la plupart d'entre elles (Tab. 3).

Les deux plus importantes phytoplasmoses auxquelles est confrontée la viticulture européenne sont le Bois Noir causé par le phytoplasme du stolbur (16SrXIIA) et la Flavescence dorée (FD) causée par des phytoplasmes du groupe des jaunisses de l'orme

(16SrV) (Daire *et al.* 1993; Maixner *et al.* 1995). Cette dernière est sûrement la plus dommageable car elle est transmise spécifiquement de cep à cep par un vecteur unique, la cicadelle *Scaphoideus titanus* (Schvester *et al.* 1961). Même si *Oncopsis alni* (Homoptera : Cicadellidae) et *Dictyophara europaea* (Homoptera : Dictyopharidae) peuvent transmettre le phytoplasme responsable de la FD à la vigne, respectivement depuis *Alnus glutinosa* et *Clematis vitalba*, *S. titanus* est le seul vecteur connu capable de le transmettre d'une vigne à une autre. Comme ce pathogène a un degré de spécificité élevé envers son vecteur, les mouvements de l'insecte d'une plante à une autre sont la seule activité dont dépend la transmission. Ces mouvements sont conditionnés par plusieurs facteurs : l'histoire de vie de l'insecte, ses préférences au sein d'une gamme d'hôtes, la disponibilité et l'état de ces hôtes, mais aussi leur statut de réservoir de pathogène (Carter 1961). Les connaissances concernant le système vigne / phytoplasmes de la FD / *S. titanus* sur ces différents points sont développées dans la section suivante.



**Tableau 3.** Jaunisses de la vigne. ND : non déterminé. D'après Boudon-Padieu 2005, Maixner 2006 et Laimer *et al.* 2009.

Jaunisse de la vigne	Phytoplasme	Groupe ribosomique	Vecteur sur vigne	Plantes hôtes principales du vecteur	Présence signalée	Autres vecteurs naturels de phytoplasmes du même groupe
Flavescence dorée	<i>Candidatus Phytoplasma vitis</i>	16SrV (-C, -D)	<i>Scaphoideus titanus</i>	<i>Vitis sp.</i>	France, Italie, Espagne, Portugal, Serbie, Slovénie	<i>Scaphoideus luteolus</i> <i>Macropsis sp.</i>
Palatinate grapevine yellows	<i>Candidatus Phytoplasma ulmi</i>	16SrV	<i>Oncopsis alni</i>	<i>Alnus glutinosa</i>	Allemagne	
Bois noir, Legno nero, Vergilbungskrankheit	<i>Candidatus Phytoplasma solani</i>	16SrXII-A	<i>Hyalosthes obsoletus</i>	<i>Convolvulus arvensis</i> , <i>Urtica dioica</i> , <i>Ranunculus sp.</i> , <i>Solanum sp.</i> , <i>Lavandula sp.</i>	Europe, Israël, Liban, Chili	<i>Pentastiridius sp.</i> , <i>Macrosteles quadripunctulatus</i> , <i>Reptalus panzeri</i>
Australian grapevine yellows	<i>Candidatus Phytoplasma australiense</i>	16SrXII-B	ND	ND	Australie Israël ?	<i>Oliarius atkinsoni</i>
Buckland valley grapevine yellows	<i>Candidatus Phytoplasma australasia</i>	16SrII	ND	ND	Australie	<i>Orius argentatus</i>
Grapevine yellows	<i>Candidatus Phytoplasma asteris</i>	16 SrI	ND	ND	Australie	
North American Grapevine Yellows	<i>Candidatus Phytoplasma pruni</i>	16 SrI (-B, -C) 16 SrI-A 16SrIII-I	ND ND ND	ND ND ND	France, Italie, Tunisie, Chili Virginie (USA) New-York, Virginie (USA)	<i>Euscelis sp.</i> , <i>Daibulus sp.</i> , <i>Macrosteles sp.</i> <i>Agalia constricta</i> <i>Colladonus montanus</i>

**Etat de l'art de la biologie et de  
l'éco-éthologie du modèle biologique  
*Scaphoideus titanus* / '*Candidatus*  
*Phytoplasma vitis*'/ *Vitis vinifera***

## A. *Scaphoideus titanus*

*Scaphoideus titanus* est un insecte Homoptère de la famille des Cicadellidae, communément appelées cicadelles. Le genre *Scaphoideus* Uhler (Hemiptera, Cicadellidae, Deltocephalinae) est un des genres de cicadelles regroupant le plus d'espèces avec plus de 150 représentants que l'on retrouve principalement en Amérique du Nord, en Asie et en Afrique (Webb & Viraktamath 2007). Seules 9 espèces ont été décrites dans la zone paléarctique (Webb & Viraktamath 2007). En France métropolitaine, jusqu'à la récente découverte de *S. dellagiustinae* (Nusillard 2007; Webb & Viraktamath 2007), *S. titanus* était la seule espèce du genre décrite.

### 1. Repères historiques et répartition actuelle

Dans la première moitié du XX<sup>ème</sup> siècle est apparue une nouvelle maladie de la vigne, la Flavescence dorée. Cette maladie, caractérisée pour la première fois en 1949 en Armagnac (Caudwell 1957), a été responsable de la destruction rapide d'une grande partie de ce vignoble et fut la plus grosse catastrophe qu'a connue la viticulture française depuis le Phylloxera. Une fois l'épidémiologie de la maladie mieux comprise, il parut fortement probable celle-ci était transmise par un vecteur. D'actives recherches ont été menées afin d'identifier le vecteur, et ont conduit en 1958 à la découverte de *S. titanus* dans un vignoble bordelais (Bonfils & Schvester 1960). Cet insecte, d'origine nord-américaine, était déjà présent du Nord de la Gironde (Saint André de Cubzac) au Sud des Pyrénées Atlantiques (Arberats) et jusque dans les Hautes Pyrénées (Madiran), le Gers et les Landes (Bonfils & Schvester 1960) à l'Est. Toutefois, les populations de *S. titanus* n'étaient jamais abondantes (Bonfils & Schvester 1960). Le précédent recensement des cicadelles de la famille des Jassidae<sup>1</sup> en France, réalisé en 1927 par Ribaut, ne faisait pas mention de cette espèce (Caudwell 1983), ce qui autorise à supposer que *S. titanus* ait été introduit en Europe entre 1927 et 1958 ; ou qu'en 1927 l'insecte était déjà présent, mais tellement rare ou à des densités si faibles qu'il serait passé inaperçu. Son introduction pourrait être liée aux intenses importations de bois de vigne depuis les Etats-Unis destinées à lutter contre la crise phylloxérique, et dont la majorité ont été effectuées avant 1930 (Granett *et al.* 2001).

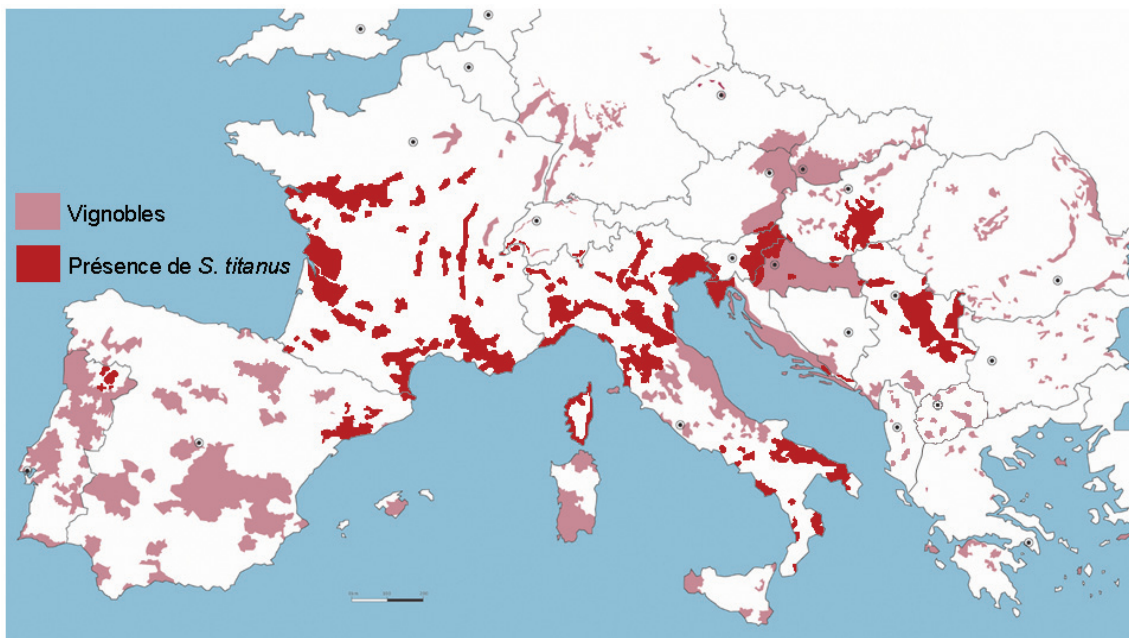
---

<sup>1</sup> Jassidae : actuellement famille des Cicadellidae.

**Tableau 4.** Présence et date d'apparition (si renseignée) de *S. titanus* dans les différentes régions viticoles d'Europe.

<b>Pays</b>	<b>Région</b>	<b>1<sup>ère</sup> description</b>	<b>Référence</b>
<b>Autriche</b>	Sud de la Styrie	2004	Steffek <i>et al.</i> 2007
<b>Bosnie Herzegovine</b>	Trebinje (Sud)	2007	Delic <i>et al.</i> 2007
<b>Croatie</b>	Tout le pays	2006	Seljak (com. pers.)
<b>Espagne</b>	Catalogne		Rahola <i>et al.</i> 1997
<b>France</b>	Alpes Maritimes	1961	Schvester <i>et al.</i> 1962
	Ardèche	1986	Caudwell & Larrue 1986
	Aude		Vidano 1964
	Bouches du Rhône	1985	Caudwell & Larrue 1986b
	Bourgogne		Boudon-Padieu 2000
	Charente		Caudwell <i>et al.</i> 1974
	Charentes	1961	Schvester <i>et al.</i> 1962
	Corse	1971	Boubals & Caudwell 1971
	Côtes du Rhône		Caudwell <i>et al.</i> 1974
	Dordogne		Caudwell & Larrue 1986b
	Drôme		Caudwell & Larrue 1986b
	Gard	1986	Caudwell & Larrue 1986b
	Gers		Bonfils & Schvester 1960
	Gironde	1958	Bonfils & Schvester 1960
	Haute Garonne		Vidano 1964
	Hautes et Basses Pyrénées		Bonfils & Schvester 1960
	Hérault	1961	Schvester <i>et al.</i> 1962
	Landes		Bonfils & Schvester 1960
	Languedoc		Caudwell <i>et al.</i> 1974
	Midi-Pyrénées		Caudwell <i>et al.</i> 1974
	Poitou		Della Giustina 1989
	Savoie	1986	Della Giustina 1989
	Sud-Beaujolais	1987	Della Giustina 1989
	Var		Vidano 1964
	Vaucluse		Vidano 1964
	Yonne	1998	Boudon-Padieu 2000
<b>Hongrie</b>	Sud Ouest		Der <i>et al.</i> 2007
	Est		Orosz & Zsolnai 2010
<b>Italie</b>	Basilicate	2002	Viggiani 2002
	Calabre et Pouilles		Viggiani 2004
	Campanie	2004	Danise <i>et al.</i> 2004
	Emilie-Romagne		Cravedi <i>et al.</i> 1993
	Frioul-Vénétie julienne		Carraro <i>et al.</i> 1994
	Ligurie	1963	Vidano 1964
	Lombardie	1975	Osler <i>et al.</i> 1975
	Ombrie		Santinelli <i>et al.</i> 2003
	Piémont		Bosco <i>et al.</i> 1997
	Sardaigne		Bournier 1976
	Toscane		Steffek <i>et al.</i> 2007
	Val d'Aoste		Steffek <i>et al.</i> 2007
	Vénétie	1983	Belli <i>et al.</i> 1985
<b>Portugal</b>	North	1999	Quartau <i>et al.</i> 2001
<b>Serbie</b>	Centre et sud		Magud & Toševski 2004
	Sud		Duduk <i>et al.</i> 2003
	tout le pays excepté Pčinja		Krnjajic <i>et al.</i> 2007
<b>Slovénie</b>	Ouest		Seljak 1987
	Sud Ouest	1983	Seljak 1987
	Tout le pays		Seljak 2008
<b>Suisse</b>	Romandie, canton de Genève	1996	Clerc <i>et al.</i> 1997
	Tessin	1968	Baggiolini <i>et al.</i> 1968
	Vaud & Genève	2006	Schaerer <i>et al.</i> 2007

Très vite, on découvre sa présence dans des vignobles éloignés de sa zone de découverte. Ainsi, au début des années 1960, l'insecte est décrit en Charente Maritime, en Haute Garonne, dans l'Hérault, les Alpes Maritimes, le Var, le Vaucluse, ainsi que dans le Nord de l'Italie (Schvester *et al.* 1962b; Vidano 1964). Cette cicadelle s'est ensuite répandue vers les autres vignobles français et européens et l'on retrouve maintenant *S. titanus* d'Ouest en Est, du Portugal à la Serbie, et du Nord au Sud, de l'Auxerrois en France aux Pouilles en Italie (Tab. 4 et Fig. 4). La répartition de *S. titanus* en Europe serait limitée au Nord par la brièveté de la saison chaude qui ne permettrait pas à l'insecte de compléter son cycle et de pondre, et au Sud par des hivers trop doux ou trop courts pour que le froid lève la diapause des œufs (Caudwell & Larrue 1979).



**Figure 4.** Distribution actuelle de *S. titanus* au sein du vignoble européen.

Les études de génétique des populations menées sur cet organisme ont montré une diversité génétique des populations européennes bien plus faible que celles des populations américaines, ce qui semble indiquer que la majorité des populations européennes actuelles proviennent d'une seule introduction (Bertin *et al.* 2007; Papura *et al.* 2007; 2009), même si un génotype mitochondrial rare présent en Suisse témoigne de l'existence d'au moins une deuxième introduction (Papura, com. pers.). La propagation du vecteur en Europe est donc principalement fondée sur la dispersion des populations introduites plutôt que par des introductions multiples. En effet, le manque d'isolement génétique par la distance entre des populations apparues anciennement (France) et récemment (Slovénie et Espagne) en Europe, ainsi que les différences observées entre des populations proches géographiquement

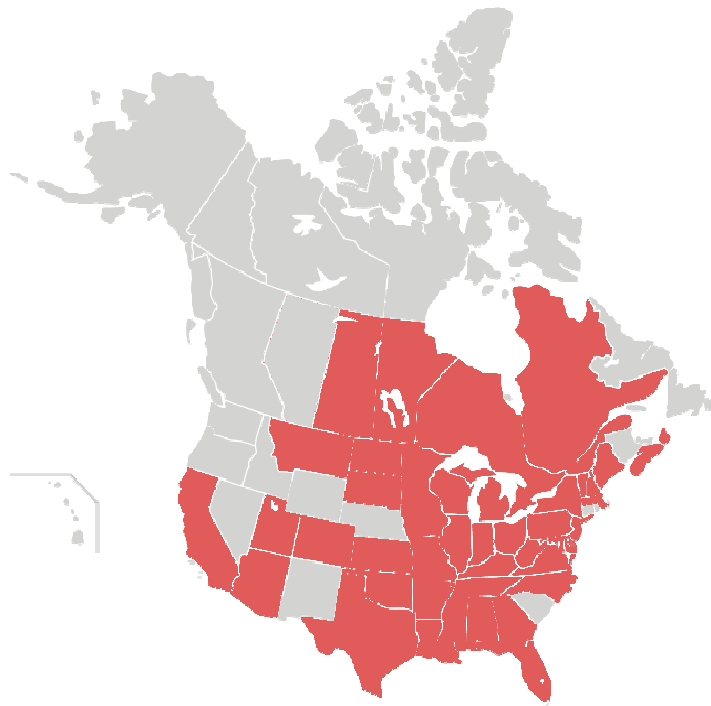
permettent de supposer qu'il y a eu une introduction ancienne en Europe suivie de plusieurs évènements de colonisation dans les différents pays européens pouvant s'expliquer par une diffusion à grande échelle de matériel végétal porteur d'œufs (Bertin *et al.* 2007; Papura *et al.* 2009). Cette propagation du vecteur à grande distance est probablement due aux activités humaines, en particulier le commerce de bois de vigne destinés à la plantation (Pavan *et al.* 1997; Bertin *et al.* 2007; Papura *et al.* 2009). Cette hypothèse est cohérente avec la faible capacité de dispersion de ce vecteur. En effet, celle-ci semble limitée puisqu'on n'effectue quasiment plus de captures au-delà d'un rayon de 25-30 m autour du vignoble pour les adultes et que cette distance diminue en cas de discontinuité des ceps de vigne (Lessio & Alma 2004a; Beanland *et al.* 2006). Cependant, la dissémination passive de *S. titanus* infectieux à grande distance par le vent pourrait quand même se produire. En effet, les premières observations sur la FD montrèrent que les apparitions de foyers secondaires semblaient liées au vent (Caudwell 1957), suggérant une dissémination aérienne des vecteurs. Cette hypothèse a aussi été avancée pour expliquer l'apparition de *S. titanus* en Autriche depuis la Slovénie et est basée sur la capture d'individus dans la vallée de la rivière "Mur" dans le sens du vent (Steffek *et al.* 2007). Ainsi, des insectes ont été retrouvés dans des vignobles situés à plusieurs kilomètres des sites infestés. En Espagne, la distribution spatiale de la Flavescence dorée en Catalogne semble indiquer qu'elle soit sous l'influence de la dispersion de vecteurs infectieux par la tramontane (Rahola *et al.* 1997).

*Scaphoideus titanus* n'a pas encore colonisé tous les vignobles présentant des conditions climatiques satisfaisantes pour son développement. Plusieurs études ont en effet estimé que des populations de *S. titanus* pourraient s'installer et se développer dans certaines régions viticoles du Nord de l'Europe encore exemptes (Maixner 2005; Steffek *et al.* 2007), ainsi que dans les principales régions viticoles de Chine (Ge & Wen 2006). Il est aussi intéressant de noter que dans sa zone d'origine, l'Amérique du Nord, *S. titanus* est décrit dans de nombreuses provinces et états du Canada et des Etats-Unis avec des conditions climatiques très contrastées (Tab. 5 & Fig. 5). Cependant ces données doivent être prises avec beaucoup de précautions car le grand nombre d'espèces de *Scaphoideus* morphologiquement proches présentes en Amérique du Nord rend difficile leur identification (Malausa *et al.* 2003). De plus, les caractères utilisés pour l'identification de *S. titanus*, en particulier ceux des mâles, sont assez variables et certains peuvent être semblables à ceux d'autres espèces du genre *Scaphoideus* (Barnett 1976). Il faut aussi prendre en compte le fait que la majeure partie des observations sont antérieures à 1950 (Tab. 5) et que le genre a été plusieurs fois révisé depuis. Ainsi, les espèces *S. cyprius*, *S. littoralis* (nom donné à *S. titanus* en Europe lors de sa découverte), *S. amplus*, *S. brevidens*, *S. diutius*, *S. nigrellus*, *S. scelestus* et *S. aduncus* ont été mises en

synonymie avec *S. titanus* lors de la révision du genre *Scaphoideus* par Barnett (1976). Enfin, cet insecte n'a été que très peu étudié dans sa zone d'origine car il n'y représente aucun problème d'ordre économique.

**Tableau 5.** Présence et date de description de *S. titanus* en Amérique du Nord. \* description récente de Zahniser & Dietrich (2008).

<b>Pays</b>	<b>Etat / Province</b>	<b>1<sup>ère</sup> description</b>	<b>Référence</b>
<b>Etats-Unis</b>	Alabama		Barnett 1976
	Arizona		Barnett 1976
	Arkansas		Barnett 1976
	Californie		Barnett 1976
	Caroline du Nord		Barnett 1976
	Colorado		Barnett 1976
	Dakota du Nord		Barnett 1976
	Dakota du Sud	1946	Metcalf 1968
	Delaware		Barnett 1976
	Floride		Barnett 1976
	Georgie	1955	Metcalf 1968
	Illinois	1946	De Long 1948*
	Indiana		Barnett 1976
	Iowa		Barnett 1976
	Kansas		Barnett 1976
	Kentucky		Barnett 1976
	Louisiane	1936	Metcalf 1968
	Maine		Barnett 1976
	Maryland		Barnett 1976
	Massachusetts	1932	Metcalf 1968
	Michigan		Barnett 1976
	Minnesota	1943	Metcalf 1968
	Mississippi		Barnett 1976
	Missouri		Barnett 1976
	Montana		Barnett 1976
	New Hampshire		Barnett 1976
	New Jersey		Barnett 1976
	New York		Maixner <i>et al.</i> 1993
	Ohio	1936	Osborn & Knull 1946
	Oklahoma		Barnett 1976
	Pennsylvanie	1936	Metcalf 1968
	Tennessee	1936	Metcalf 1968
	Texas		Barnett 1976
	Utah		Barnett 1976
	Vermont		Barnett 1976
	Virginie		Beanland <i>et al.</i> 2006
	Virginie Occidentale		Hamilton 1983
	Wisconsin	1936	Metcalf 1968
	Etats orientaux	1948	De Long 1948
	Etats du Sud-Est	1949	Metcalf 1968
Etats centraux	1949	Metcalf 1968	
<b>Canada</b>	Manitoba		Maw <i>et al.</i> 2000
	Nouvelle-Écosse		Maw <i>et al.</i> 2000
	Ontario	1956	Beirne 1956
	Québec	1956	Beirne 1956
	Saskatchewan		Maw <i>et al.</i> 2000



**Figure 5.** Distribution actuelle de *S. titanus* en Amérique du Nord.

## 2. Description des différents stades de développement

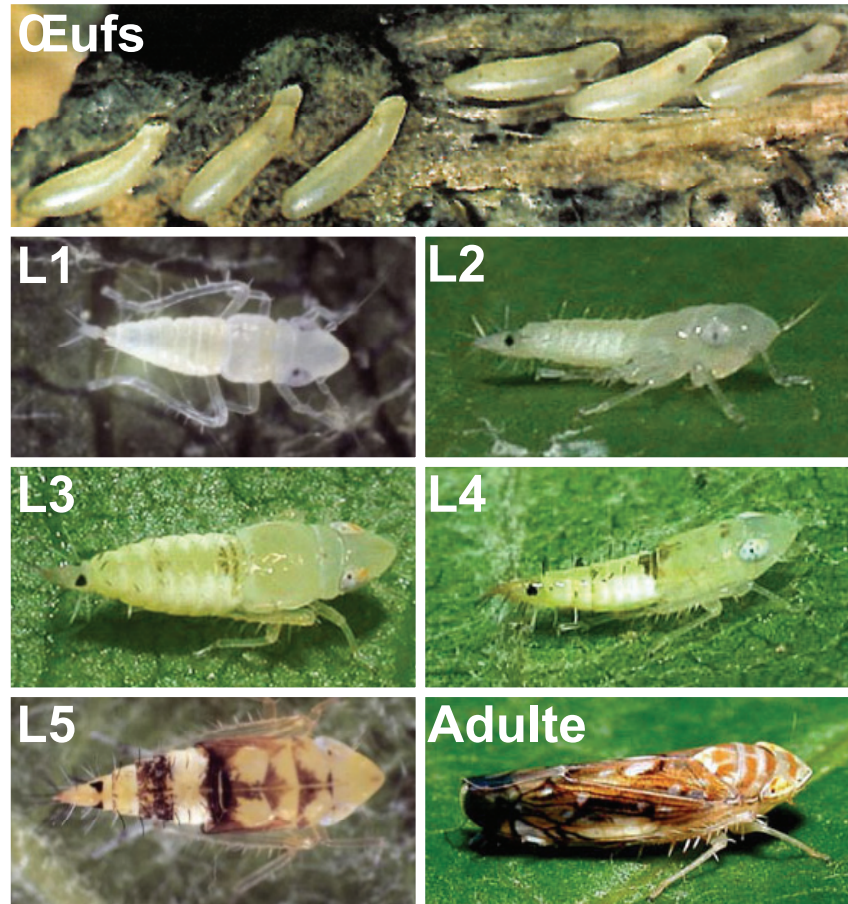
Eufs (Fig. 6) : Les œufs de *S. titanus* ont un chorion lisse, sans ornementation. Ils sont allongés et aplatis latéralement, parfois légèrement arqués. Leur couleur varie de bistre clair à ocre brun en fonction de leur âge et mesurent environ 1,3 mm de long et 0,3 mm dans leur plus grande largeur (Schvester *et al.* 1962b).

Larves (Fig. 6) : La coloration et la taille des larves varient selon leur âge. A l'éclosion elles sont quasiment translucides, passent par un blanc laiteux, puis deviennent d'un blanc ivoirine en fin de 2<sup>ème</sup> stade. Au 3<sup>ème</sup> stade, les larves deviennent d'un jaune ivoirine de plus en plus accentué au fur et à mesure de leur vieillissement. Enfin, les 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> stades voient l'apparition de taches irrégulières bistre clair à brun noir et l'apparition des ébauches alaires et élytrales (Schvester *et al.* 1962b). Il est possible de déterminer les stades larvaires de manière fiable par l'observation des soies à l'extrémité du telson (Della Giustina *et al.* 1992).

Les larves de *S. titanus* sont facilement distinguables de celles des 2 autres espèces majoritaires dans les vignobles français, *Empoasca vitis* et *Erythroneura simplex*, car les premières sont plus grosses et surtout disposent de 2 taches noires disposées symétriquement en position dorso-latérale à l'extrémité postérieure de l'abdomen (Schvester *et al.* 1962b).

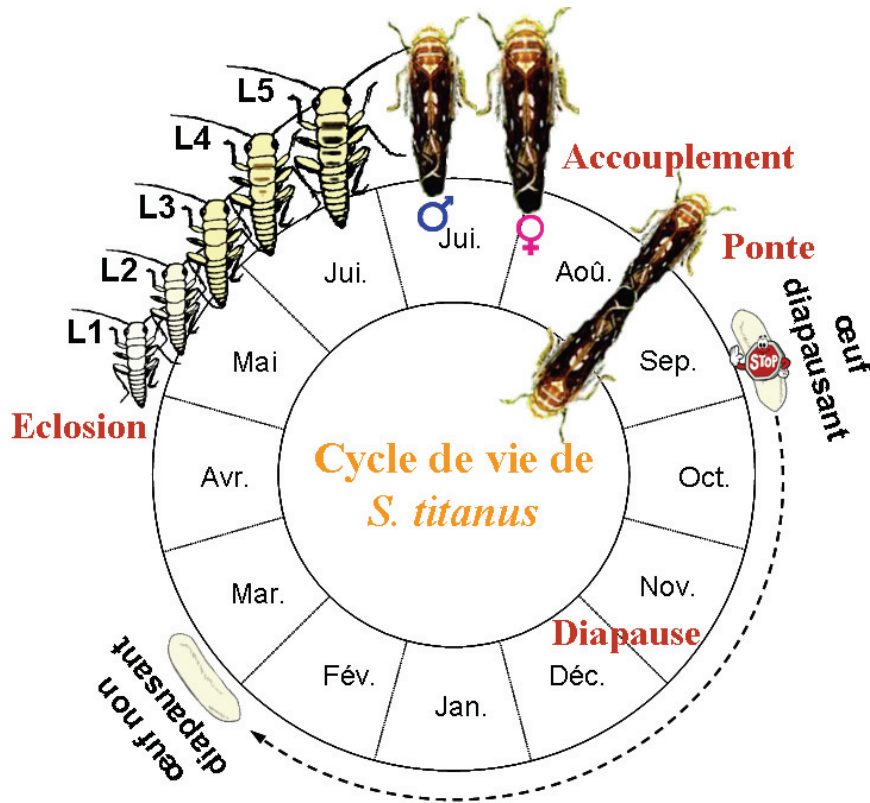


Adultes (Fig. 6) : Il existe un dimorphisme sexuel puisque les femelles sont plus grandes (5,5 - 5,8 mm hors antennes) que les mâles (4,8 -5 mm) et qu'il existe trois bandes transversales brunes au niveau du vertex pour les femelles, contre une seule pour les mâles (Schvester *et al.* 1962b). L'existence d'un ovipositeur chez les femelles est également un moyen de différencier les deux sexes, et cela dès le 5<sup>ème</sup> stade larvaire où l'on peut observer les ébauches ventrales des genitalia au niveau de l'extrémité postérieure (Della Giustina *et al.* 1992).



**Figure 6.** Stades de développement de *S. titanus*. Lx : x<sup>ème</sup> stade larvaire. Photos : œufs : Vidano 1964, L1 & L5 : <http://www.racine.ra.it/>, L2 – L 4 & adulte : <http://www.chem.bg.ac.yu/>.

### 3. Cycle de vie (Fig. 7)



**Figure 7.** Cycle de vie de *Scaphoideus titanus*. Les dates sont mentionnées à titre indicatif et sont susceptibles de varier selon le lieu et l'année.

Les œufs passent l'hiver en diapause. Ils sont pondus à la fin de l'été sous l'écorce en voie d'excoriation des bois de vigne de plus d'un an, soit individuellement soit par groupes alignés (Schvester *et al.* 1962b; Vidano 1964). Cependant, il a été observé des pontes sur des sarments de l'année présentant des anfractuosités suite à un mauvais aoûtement de ceps atteints de Flavescence dorée, mais cela semble rare (Schvester *et al.* 1962b). La fécondité des femelles a été évaluée à 8-10 œufs en moyenne mais pourrait atteindre une vingtaine d'œufs (Linder & Jermini 2007). Ces œufs subissent une diapause d'environ 6 mois dont la levée semble nécessiter une exposition à des températures froides (Caudwell *et al.* 1970). Cependant, une exposition à des températures très froides (- 18 °C), même brèves, bloquerait les éclosions (Caudwell *et al.* 1970). Ceci semble surprenant étant donnée l'origine nord-américaine du vecteur où de telles températures ne sont pas inhabituelles l'hiver. Les éclosions débutent en général fin mai et s'étalent ensuite sur 4 à 5 semaines avec de fortes variations interannuelles et régionales. Ainsi, les éclosions débutent plus tôt en Corse qu'en Armagnac, de l'ordre de 15 jours, mais sont plus étalées (Caudwell *et al.* 1974). Elles s'étalent sur 1,5 mois dans la deuxième région contre 3 mois dans la première (Caudwell & Larrue 1986). Ce fort étalement, typique des vignobles à hiver doux comme la Corse (Boubals

& Caudwell 1971), fait qu'à une même date on peut trouver simultanément tous les stades de développement (du premier stade larvaire à l'adulte). Des avancées sur la compréhension de la variation de l'étalement des éclosions seront proposées dans cette thèse.

Les cinq stades larvaires se succèdent sur une période de 35 à 55 jours. Les premiers adultes apparaissent généralement fin juillet et leur durée de vie est d'environ 1 mois, les femelles étant capables de pondre environ 10 jours après la mue imaginale (Schvester *et al.* 1962a). La distribution temporelle des adultes montre une forte concentration de la présence d'imagos sur une courte période (Bosco *et al.* 1997). Il n'existe qu'une seule génération par an. Cependant, il faut toutefois noter qu'il a été observé en 1987 dans l'Aude l'apparition de L1 environ 3 semaines après les dernières observations d'individus de ce stade (Bernard & Du Fretay 1988). De plus, une observation semblable a été faite lors d'expériences simultanées en cages où ne se trouvaient que des adultes et aucune autre source possible d'œufs. Il serait donc possible dans des conditions particulières d'observer des femelles produisant des œufs non diapausants (Bernard *et al.* 1988).

L'accouplement chez les Hémiptères Auchénorrhynques, hors cigales, met en jeu une communication utilisant des signaux vibratoires transmis par le substrat (Čokl & Virant-Doberlet 2003). Dans le cas de *S. titanus*, c'est toujours le mâle qui, lors du crépuscule et du début de nuit, va spontanément produire un signal en premier afin d'initier une réponse de la part d'une femelle disposée à s'accoupler (Mazzoni *et al.* 2009c). Si cette dernière répond, il s'en suivra un comportement de cour (signaux vibratoires spécifiques) de la part du mâle (Mazzoni *et al.* 2009c). L'accouplement dure de 40 à 70 minutes. Les mâles peuvent s'accoupler plusieurs fois alors que les femelles une seule fois (Lucchi *et al.* 2004; Mazzoni *et al.* 2009c). Si un autre mâle se trouve en présence d'une communication mâle / femelle, il est capable d'émettre des signaux destinés à perturber cette communication et/ou s'approcher silencieusement de la femelle pour s'accoupler avec elle (Mazzoni *et al.* 2009c).

#### 4. Ennemis naturels

Les niveaux de population observés sur *V. vinifera* en France sont nettement supérieurs à ceux observés aux Etats-Unis (Maixner *et al.* 1993). Ils ont ainsi pu atteindre 10 000 individus par hectare (Schvester 1969) et ce, malgré la très forte pression de sélection subie par les larves. En effet, les populations subissent une réduction de 50 % de leur effectif entre les stades L1 et L2 et aussi entre les stades L2 et L3 (Bernard & Du Fretay 1988). Même si la pression exercée par les ennemis naturels semble faible en Europe, elle n'est toutefois pas nulle. Ainsi, il a été observé sur des larves la présence de "sacs herniaires" typiques des

Hyménoptères Dryinides (Schvester *et al.* 1962b). Côté prédateurs, notons les araignées, les larves de Syrphides, des punaises Réduvides (Schvester *et al.* 1962b), ainsi que des acariens comme *Anystis baccarum* (Bernard & Du Fretay 1988) ou appartenant à la famille des Bdellidae (obs. pers.).

Dans sa région d'origine, il a été noté la présence d'Hyménoptères Dryinides et de Diptères Pipunculides à des taux de respectivement 1,3 et 0,8 %. Certaines espèces ont pu être identifiées plus particulièrement : *Lonchodryinus flavus*, *Anteon masoni*, *Gonatopus peculiaris*, *Esagonatopus perdebilis* et *E. niger* (Hymenoptera : Dryinidae), *Polynema sp.* (Hymenoptera : Myramidae) et *Oligosita sp.* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) (Malausa *et al.* 2003).

Il est intéressant de noter que *S. titanus* semblerait avoir une relation particulière avec la punaise prédatrice *Malacocoris chlorizans* (Hemiptera : Miridae). Celle ci est capable de stimuler la production de miellat de la cicadelle via un contact entre ses antennes et l'abdomen de *S. titanus*, le liquide étant ensuite ingéré par la punaise (Carle 1965). Ses observations ont été réalisées au laboratoire mais les observations au vignoble montrent que les populations de *M. chlorizans* sont toujours associées à la présence de *S. titanus* et que leur apparition et disparition au cours de l'année sont synchronisées. Cela laisse donc supposer que dans la nature cette punaise puisse vivre en commensale de *S. titanus*.

## 5. Relations avec la ressource alimentaire

*Scaphoideus titanus* semble être inféodée à *Vitis vinifera* en Europe, alors qu'en Amérique du Nord, *V. riparia* est la plante hôte préférée de cette cicadelle (Maixner *et al.* 1993). Dans sa zone d'origine, peu d'individus sont observés au vignoble et la plupart des captures sont réalisées dans les sous bois où poussent des espèces sauvages de *Vitis* (Maixner *et al.* 1993; Beanland *et al.* 2006). Cette préférence pour les *Vitis* américains au détriment de *V. vinifera* est aussi observée en Europe (Lessio *et al.* 2007). Ainsi, il arrive également de trouver *S. titanus* sur *V. labrusca* (Vidano 1964; Viggiani 2002) et *Parthenocissus quinquefolia* (Vidano 1964; Maixner *et al.* 1993). Néanmoins, la présence d'œufs sur cette dernière plante n'a jamais été observée. Cette cicadelle a en Europe été retrouvée occasionnellement sur des plantes poussant en vignobles n'appartenant pas à la famille des Vitaceae (*Salix viminalis* et *Prunus persica*) au contact direct des vignes (Schvester *et al.* 1962a). Elle a également été observée en grand nombre aux Etats-Unis sur l'orme d'Amérique, *Ulmus americana* (Gibson 1973). *S. titanus* a aussi été décrit sur de nombreuses autres plantes

sans que leur statut de plante hôte ne soit démontré (Tab. 6), ainsi que dans divers milieux : bois, prairies, vergers, frênaies et tourbières (Barnett 1976; Hill & Sinclair 2000).

**Tableau 6.** Plantes sur lesquelles ont été observés *S. titanus*. n.r. : non renseigné.

Famille	Espèce	Commentaire	Référence
<b>Amaranthaceae</b>	<i>Amaranthus sp.</i>	Peu d'individus	Posenato 2001
<b>Asteraceae</b>	<i>Solidago sp.</i>		Barnett 1976
<b>Chenopodiaceae</b>	<i>Chenopodium sp.</i>	Peu d'individus	Posenato 2001
<b>Convolvulaceae</b>	<i>Convolvulus sp.</i>	Peu d'individus	Posenato 2001
<b>Cupressaceae</b>	<i>Juniperus virginiana</i>		Barnett 1976
<b>Dryopteridaceae</b>	<i>Onoclea sensibilis</i>		Barnett 1976
<b>Fabaceae</b>	<i>Vicia faba</i>	Hôte expérimental	Caudwell <i>et al.</i> 1970
<b>Poaceae</b>	n.r.		Barnett 1976
<b>Polygonaceae</b>	<i>Polygonum sp.</i>		Barnett 1976
<b>Rosaceae</b>	<i>Crataegus sp.</i>		Barnett 1976
	<i>Prunus persica</i>		Barnett 1976, Schvester <i>et al.</i> 1962a
	<i>Malus sp.</i>		Barnett 1976
<b>Salicaceae</b>	<i>Salix sp.</i>		Barnett 1976
	<i>Salix viminalis</i>	Peu d'individus, en vignoble	Schvester <i>et al.</i> 1962a
<b>Ulmaceae</b>	<i>Ulmus americana</i>	Beaucoup d'individus	Gibson 1973
<b>Vitaceae</b>	<i>Parthenocissus quinquefolia</i>	Tous les stades, excepté les œufs	Vidano 1966 Maixner <i>et al.</i> 1994
	<i>Vitis labrusca</i>		Vidano 1964 Viggiani 2002
	<i>Vitis riparia</i>	Préférée à <i>V. vinifera</i>	Maixner <i>et al.</i> 1993
	<i>Vitis vinifera</i>		Bonfils & Schvester 1960

Différents niveaux de populations de *S. titanus* ont été observés en fonction des cépages dans des parcelles où différents cépages coexistaient (Schvester *et al.* 1962b; Posenato *et al.* 2001; Viggiani 2002). Ainsi le Baco 22 A pouvait accueillir de 5 à 57 fois plus d'individus que les cépages Villard blanc et 13 Couderc (Schvester *et al.* 1962b). Il peut être intéressant de préciser que le premier cépage montre une grande sensibilité à la flavescence dorée, alors que le second n'est que peu sensible (Tab. 7). Des différences de sensibilité ont aussi été observées en Corse, où dans un vignoble planté en Malvoisie de Corse et en Grenache, la maladie progressait en taches denses sur le premier cépage alors qu'un seul cep du deuxième était gravement atteint (Boubals & Caudwell 1971) (Fig. 8). Cela peut laisser penser que bien que les 2 cépages soient très sensibles (Tab. 7), la plus grande fréquence de ceps de Malvoisie contaminés soit due à une attractivité sur le vecteur supérieure, et donc à une fréquence d'inoculation du phytoplasme plus élevée.





**Figure 8.** Parcelle de vigne atteinte de Flavescence dorée en Corse et coplantée de Malvoisie (à gauche) et de Grenache (à droite). D'après Boubals & Caudwell 1971.

Les larves restent habituellement sur la plante où elles ont éclos (Maixner *et al.* 1993). Cependant, leur grande mobilité leur permet de changer aisément de plante en vignoble (obs. pers.). Les jeunes larves préfèrent s'alimenter sur les feuilles des pampres<sup>1</sup>, des gourmands<sup>2</sup> et des sagates<sup>3</sup> s'ils existent (Schvester *et al.* 1962b; Bernard & Du Fretay 1988; Posenato *et al.* 2001). A tous les stades, l'insecte sera préférentiellement retrouvé sur les feuilles les plus abritées : les feuilles basses et intérieures du cep (Schvester *et al.* 1962b). Dans le cas de conditions climatiques favorables, les larves peuvent être retrouvées au niveau des apex (Bernard & Du Fretay 1988).

---

<sup>1</sup> Pampre : rameau de vigne avec feuilles et grappes.

<sup>2</sup> Gourmand : rameau qui pousse sur le tronc de la souche.

<sup>3</sup> Sagate : rejet du porte-greffe qui pousse au pied de la souche.

**Tableau 7.** Sensibilité à la Flavescence dorée de quelques cépages.

Cépage	Très sensible	Sensible	Peu sensible
157 Gaillard	Caudwell 1965	Galet 1982	
<b>Alicante Bouschet</b>	Boubals & Caudwell 1971, Caudwell <i>et al.</i> 1974, Galet 1982		
<b>Aramon</b>	Boubals and Caudwell 1971, Galet 1982		
<b>Aubun</b>	Boubals & Caudwell 1971		
<b>Baco 22 A</b>	Caudwell 1965, Galet 1982		
<b>Barbera</b>	Belli <i>et al.</i> 1985		
<b>Baroque</b>			Caudwell 1965, Galet 1982
<b>Cabernet franc</b>		Galet 1982	
<b>Cabernet Sauvignon</b>	Boudon-Padieu 2000	Galet 1982	
<b>Carignan</b>		Boubals & Caudwell 1971, Galet 1982	
<b>Chardonnay</b>	Boudon-Padieu 2000, Galet 1982		
<b>Chasselas</b>			Caudwell 1965, Galet 1982
<b>Cinsaut</b>		Boubals & Caudwell 1971, Galet 1982	
<b>Colombard</b>		Galet 1982	Caudwell 1965
<b>Cot</b>		Galet 1982	
<b>Couderc 13</b>			Caudwell 1965
<b>Croatina</b>		Belli <i>et al.</i> 1985	
<b>Folle blanche</b>			Galet 1982
<b>Gamay</b>		Galet 1982	
<b>Grenache</b>	Boudon-Padieu 2000, Galet, 1982		
<b>Jurançon blanc</b>	Caudwell 1965	Galet 1982	
<b>LN 33</b>	Meignoz <i>et al.</i> 1992		
<b>Malvoisie de Corse</b>	Boubals & Caudwell 1971		
<b>Merlot</b>			Galet 1982
<b>Mourvèdre</b>		Galet 1982	
<b>Muscat à petits grains</b>		Galet 1982	
<b>Nielluccio</b>	Caudwell <i>et al.</i> 1972, 1974	Galet 1982	
<b>Noah</b>	Caudwell 1965		
<b>Ondenc</b>		Caudwell 1965, Galet 1982	
<b>Picquepoult</b>			Caudwell 1965
<b>Pinot blanc</b>	Bressan <i>et al.</i> 2005c		
<b>Pinot noir</b>	Boudon-Padieu 2000	Galet 1982	
<b>Sauvignon blanc</b>	Boudon-Padieu 2000		Galet 1982
<b>Seibel 2655</b>			Caudwell 1965
<b>Sémillon</b>	Boudon-Padieu 2000		
<b>Seyval</b>			Caudwell 1965, Galet 1982
<b>Syrah</b>			Galet 1982
<b>Tannat</b>	Galet 1982		
<b>Ugni blanc</b>	Boudon-Padieu 2000	Boubals & Caudwell 1971, Caudwell 1965, Galet 1982	
<b>Uva rara</b>		Belli <i>et al.</i> 1985	
<b>Villard blanc</b>			Caudwell 1965, Galet 1982
<b>Villard noir</b>	Caudwell <i>et al.</i> 1974		

La prise de nourriture se fait grâce à des piqûres dans les vaisseaux conducteurs des feuilles. Il semblerait que *S. titanus* s'alimente préférentiellement du contenu du phloème mais se nourrit également de xylème, voire de parenchyme (Carle & Moutous 1965). Si le statut d'insecte phloémophage est confirmé par la capacité à transmettre le phytoplasme qui est localisé dans le phloème, l'existence de structures typiques des xylémophages comme la présence d'une chambre filtrante bien différenciée et de protéines proches des aquaporines (LeCaherec *et al.* 1997) laisse penser que le xylème doit constituer une part importante de

l'alimentation de ces insectes. L'étude du trajet de la gaine sétale dans les tissus de vigne par Carle et Moutous (1965), et décrit ci-après, confirment que *S. titanus* peut effectuer des prélèvements de sève dans le xylème. La perforation de l'épiderme se fait entre deux cellules. Le trajet des stylets à l'intérieur des tissus de la plante est rectiligne, orienté vers les tissus vasculaires et est intra- ou intercellulaire en fonction de l'agencement des cellules rencontrées. La formation de la gaine sétale commence au niveau du parenchyme cortical. Les stylets contournent la plupart du temps les îlots de sclérenchymes. Les bifurcations atteignent dans moins de 20 % des cas le parenchyme ligneux, les autres se partageant de manière similaire entre le xylème et le phloème. Pour cette dernière catégorie de vaisseaux, 45 % finissent dans l'assise génératrice. Aucune différence de piqûre n'a été mise en évidence en ce qui concerne les deux sexes. Si les larves préfèrent s'alimenter sur les petites nervures du limbe, les adultes s'alimentent plus volontiers sur les grosses nervures ou sur le pétiole. Cette différence est probablement due à la différence de longueur des stylets entre jeunes individus et adultes.

## 6. Dynamique spatiale et temporelle

Au vignoble, on observe une distribution non homogène des individus au sein de la parcelle aussi bien pour les adultes que les larves (Bosco *et al.* 1997; Decante & van Helden 2006; Lessio & Alma 2006).

*Scaphoideus titanus* est crépusculaire, voire nocturne, et son activité de vol est la plus importante entre la fin de l'après-midi et le début de journée (Lessio & Alma 2004b). Cette activité crépusculaire pourrait être liée à une faible capacité de dispersion puisque la nuit la portance atmosphérique est minimale et que les déplacements de l'insecte sont essentiellement le résultat de son activité musculaire (Taylor 1974). L'activité de vol est plus importante lorsque la température minimale journalière augmente, avec un maximum de capture au-dessus de 22 °C. Cependant, l'activité de vol de *S. titanus* dépend principalement de la photopériode même si le taux d'humidité relative a aussi un effet (Lessio & Alma 2004b) puisqu'un taux élevé est corrélé à une diminution de l'activité de vol de *S. titanus*. Ses déplacements à l'intérieur du vignoble pourraient alors dépendre de la densité des ceps ainsi que de celle du couvert végétal (Lessio & Alma 2004a). Cela est probablement dû au fait que les déplacements de *S. titanus* semblent essentiellement limités à la canopée (Lessio & Alma 2004a) et se font plutôt dans le sens du rang de vigne que transversalement (Lessio *et al.* 2009a). Malgré ses faibles capacités de dispersion, en Amérique du Nord, il existe des



mouvements de populations saisonniers entre le vignoble et la végétation forestière proche (Weintraub & Beanland 2006).

## 7. Nuisibilité

Au vignoble, il n'a jamais été observé de pullulations susceptibles de produire des dégâts directs (Schvester *et al.* 1962a). Les seuls dégâts directement induits par la présence d'insectes sains n'ont été observés qu'au laboratoire et pour des niveaux de population sans commune mesure avec ce qui peut exister dans la nature (Schvester *et al.* 1962b).

La nuisibilité de cette espèce se cantonne donc à son statut de vecteur de la FD. Il existe une spécificité de la transmission des souches de phytoplasmes responsables de la Flavescence dorée puisque *S. titanus* n'est pas capable de transmettre d'autres phytoplasmes responsables de jaunisses de la vigne (Carraro *et al.* 1994), en particulier l'autre principale jaunisse européenne : le Bois Noir (Caudwell *et al.* 1971b). Cependant, *S. titanus* a la capacité de transmettre des phytoplasmes du groupe 16 SrI. Ainsi, plusieurs souches ont été trouvées dans des populations naturelles et ont pu être transmises à la fève (Alma *et al.* 1997). Des essais au laboratoire ont permis de réaliser des transmissions d'autres phytoplasmes du même groupe. Ainsi, un phytoplasme identifié comme appartenant au groupe SrI-C (Boudon-Padieu *et al.* 1990), et appelé  $\phi$  à l'époque des essais, a pu être transmis expérimentalement à la vigne par *S. titanus* (Caudwell *et al.* 1971b) et un phytoplasme du groupe 16Sr-IB au chrysanthème à carène (*Chrysanthemum carinatum*) (Alma *et al.* 2001). *Scaphoideus titanus* est également capable de transmettre la FD à la fève (*Vicia faba*) et probablement aussi à *C. carinatum* (Caudwell *et al.* 1970). En Amérique du Nord, des phytoplasmes proche de la Flavescence dorée ont été détectés dans des *S. titanus* grâce à des tests ELISA (Maixner *et al.* 1993) et PCR (Olivier *et al.* 2008) sans qu'ils puissent être identifiés plus précisément.

En plus de transmettre des phytoplasmes, *S. titanus* a été soupçonné par certains auteurs de pouvoir transmettre à la vigne le virus responsable du Corky-bark (Moutous & Hevin 1986) dont la transmission est assurée par des cochenilles (Namba *et al.* 1991).

## B. La Flavescence dorée

Le terme de jaunisse de la vigne (Grapevine Yellows) a été attribué à toutes les maladies à phytoplasmes affectant la vigne, et celui de Flavescence dorée regroupe toutes les jaunisses liées à *S. titanus* (Bovey & Martelli 1992). Les phytoplasmes responsables de la Flavescence dorée sont classés dans le groupe ribosomique des "Elm yellows" (EY ou 16SR-V). Tous les phytoplasmes de ce groupe ont été trouvés dans des plantes pérennes (Griffiths *et al.* 1999). La taille de leur génome est de  $671 \pm 14$  kpb (Malembic-Maher *et al.* 2008), ce qui les place parmi les plus petits génomes connus chez les phytoplasmes (Marcone *et al.* 1999b). Il existe trois groupes de souches de phytoplasmes responsables de la Flavescence dorée (Angelini *et al.* 2001; Martini *et al.* 2002; Angelini *et al.* 2003; Arnaud *et al.* 2007) regroupées sous le nom proposé de '*Candidatus* Phytoplasma vitis' (Firrao *et al.* 2005):

- FD 1 (16SrV-C), surtout présent dans le Sud-Ouest de la France et un peu en Italie. Les souches caractérisées présentent peu de variabilité.
- FD 2 (16SrV-D), le groupe le plus répandu (83 % des observations en France, 50 % en Italie). Il présente une grande clonalité qui peut être due à une dispersion massive par le transport de bois infecté.
- FD 3 (16SrV-C), présent uniquement en Italie et qui présente la plus grande variabilité.

Des souches différentes peuvent être retrouvées dans le même vignoble, comme cela a été observé en Italie (Martini *et al.* 1999; Mori *et al.* 2002). Aucune propriété biologique du vecteur ou du phytoplasme ne peut expliquer la distribution des différentes souches ni la grande prévalence de la souche FD 2. En effet, il n'existe pas de sous-populations de *S. titanus* inféodées à une seule souche (Papura *et al.* 2009), comme il peut en exister chez le vecteur du Bois Noir *Hyalesthes obsoletus* (Johannesen *et al.* 2008), ni de différence dans la capacité des diverses souches à se multiplier (Salar *et al.* 2009). Cependant, il serait intéressant de tester l'existence de compétitions entre souches dans l'insecte et la plante. En effet, on sait qu'il peut exister des phénomènes "d'exclusion" qui permettent à une souche d'être la seule transmise par le vecteur ou la seule à se développer dans la plante hôte (Banttari & Zeyen 1979).

## 1. Historique de l'épidémie de Flavescence dorée

La Flavescence dorée est apparue dans le Sud-Ouest de la France, plus précisément en Chalosse et en Bas Armagnac dans les années 1949-1950 (Caudwell 1957). Cependant, des symptômes similaires à ceux causés par la Flavescence dorée avaient déjà été signalés dans les années 1920 sur les cépages Folle blanche et Jurançon dans le Gers (Caudwell 1964a). Toutefois, des symptômes proches peuvent être induits par d'autres pathogènes, des carences ou des stress abiotiques. En 1949, la Flavescence dorée ne concernait que très peu de ceps regroupés dans une zone géographique restreinte. La maladie s'est ensuite propagée de manière épidémique<sup>1</sup>, à une vitesse de 5 à 10 km par an, dans les Landes et le Gers, avant d'atteindre les Hautes Pyrénées et le Lot et Garonne (Caudwell 1964a). Elle est actuellement présente dans différents pays du Sud de l'Europe (Tab. 8). Il est difficile de déterminer l'apparition de la Flavescence dorée dans les différents vignobles de par l'existence de plusieurs jaunisses provoquant les mêmes symptômes, et de l'apparition assez tardive de méthodes fiables de discrimination sérologiques (ELISA) (Boudon-Padiou & Larrue 1986; Boudon-Padiou *et al.* 1989) puis basées sur l'ADN (PCR) (Daire *et al.* 1997; Clair *et al.* 2003).

La nature de la maladie n'a pas été immédiatement élucidée. Une des premières hypothèses émise était que la Flavescence dorée résultait d'une asphyxie des racines et a donc été rapprochée du rougeau physiologique (Levadoux 1955; Branas 1956a; 1956b). De par les symptômes, le caractère épidémique de la maladie et l'absence d'agents pathogènes visibles dans les tissus des plantes symptomatiques, l'hypothèse d'une jaunisse à virus a ensuite été proposée (Caudwell 1957). Cette catégorie de maladie étant transmise par un vecteur animal, les recherches menées pour le découvrir ont mené à l'identification de *S. titanus* (Schvester *et al.* 1961). La découverte de l'agent pathogène à l'origine de la maladie eut lieu quelques années plus tard car les techniques d'observations de l'époque, en particulier la microscopie, ne permettaient pas de voir ces organismes de très petite taille. La première identification a eu lieu pour la première fois en 1969 après extraction chez la vigne (Giannotti *et al.* 1969); mais la première observation *in situ* dans la vigne et dans le vecteur eut lieu 2 ans plus tard (Caudwell *et al.* 1971a). La microscopie a ensuite été couplée à l'immunologie pour améliorer les observations (Caudwell *et al.* 1981).

---

<sup>1</sup> Propagation épidémique : les ceps les plus proches des foyers ont la probabilité la plus élevée d'être contaminés.

**Tableau 8.** Distribution géographique de la Flavescence dorée en Europe.

<b>Pays</b>	<b>Région</b>	<b>Statut</b>	<b>Référence</b>	
<b>Espagne</b>	Catalogne	Contenue	Torres <i>et al.</i> 2009	
<b>France</b>	Aquitaine	Dissémination active	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Bourgogne	Contenue	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Centre	Contenue	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Champagne	Contenue	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Charentes	Apparition récente	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Corse	Dissémination active	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Drôme	Apparition récente	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Gironde	Apparition récente	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Jura	Dissémination active	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Languedoc-Roussillon	Dissémination active	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Midi-Pyrénées	Dissémination active	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Pays de Loire	Contenue	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Rhône-Alpes	Dissémination active	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Savoie	Apparition récente	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Tarn-et-Garonne	Apparition récente	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	Vaucluse	Apparition récente	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
	<b>Italie</b>	Emilie-Romagne	En expansion	Steffeck <i>et al.</i> 2007
		Frioul-Venecie julienne	Répondue	Steffeck <i>et al.</i> 2007
		Ligurie	En expansion	Steffeck <i>et al.</i> 2007
		Lombardie	Epidémies sévères	Steffeck <i>et al.</i> 2007
Marches			Belli <i>et al.</i> 2010	
Ombrie			Belli <i>et al.</i> 2010	
Piemont		Epidémies sévères	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
Régions du Nord		Très répandue	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
Toscane		En expansion	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
Toscane			Belli <i>et al.</i> 2010	
Trentin-Haut Adige		En expansion	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
Vallée du Po			Belli <i>et al.</i> 2010	
Venetie		Epidémies sévères	Steffeck <i>et al.</i> 2007	
<b>Portugal</b>		Amares	Apparition récente	Sousa <i>et al.</i> 2010
<b>Serbia</b>	Toutes les régions	Répondue	Krnjajic <i>et al.</i> 2007	
<b>Slovénie</b>	Sud-Ouest	Apparition récente	Seljak 2008	
<b>Suisse</b>	Tessin	En expansion	Schaerer <i>et al.</i> 2007	

## 2. Flavescence dorée : maladie américaine ou européenne ?

Si l'origine nord-américaine du vecteur a toujours été évidente, il n'en fut pas de même pour la FD pour laquelle les hypothèses d'une origine américaine ou européenne ont cohabité. Concernant une possible origine américaine, il a été supposé l'existence d'un cycle *V. labrusca* / FD / *S. titanus* qui aurait été importé tel quel d'Amérique du Nord. "L'introduction" d'une nouvelle plante (*V. vinifera*) pouvant servir de plante hôte à la cicadelle au sein de ce système aurait donné naissance au cycle *V. vinifera* / FD / *S. titanus* (Caudwell 1983). Cette hypothèse s'appuie sur le fait que *V. labrusca* ne manifeste pas de symptômes de FD, ce qui serait compatible avec l'existence d'une coévolution ancienne entre le phytoplasme et *V. labrusca*, et sur l'apparition d'une épidémie de jaunisse dans l'état de New-York suite à l'introduction

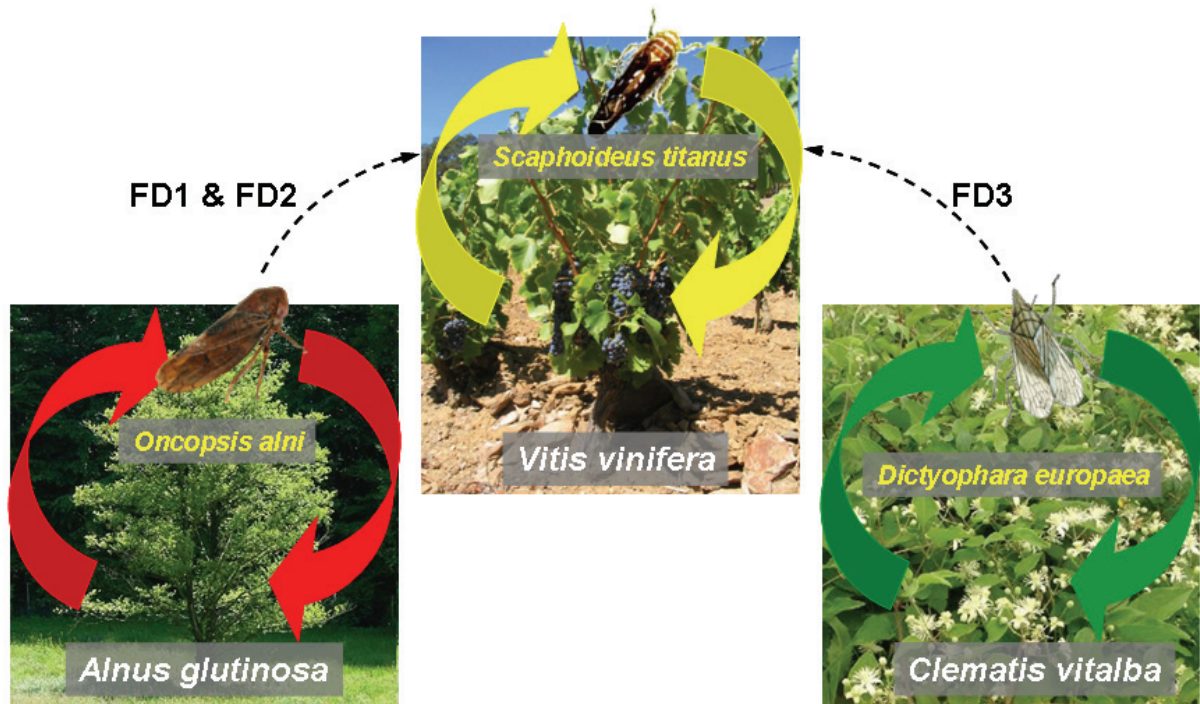
d'hybrides *V. spp.* américains x *V. vinifera* (Caudwell 1983). La découverte récente d'un phytoplasme appartenant au même groupe que ceux responsables de la FD (SrV) chez la vigne vierge à cinq feuilles (*Parthenocissus quinquefolia*) en Californie (Harrison *et al.* 2001) est un élément pouvant soutenir la thèse d'une origine nord-américaine de la FD.

Concernant une origine européenne de la maladie, l'hypothèse communément admise est qu'un vecteur occasionnel aurait transféré un phytoplasme du compartiment sauvage<sup>1</sup> à la vigne et qu'ensuite *S. titanus* aurait entretenu le cycle du phytoplasme sur la vigne en le propageant de cep en cep (Caudwell 1983). On sait qu'il existe dans la nature des cycles de phytoplasmoses sur plantes sauvages ne présentant aucun symptôme, alors que l'introduction d'un nouvel hôte peut exprimer des symptômes. C'est ainsi que le prélèvement de cicadelles *Euscelidius variegatus* dans une zone où aucune plante ne présentait de symptômes de jaunisse a pu provoquer des symptômes de phyllodie sur plusieurs autres plantes dont *Vicia faba*, *Chrysanthemum carinatum* et *Vinca rosea* (Caudwell *et al.* 1971b). Se basant sur ce postulat, 2 hypothèses permettent d'expliquer l'apparition des souches de FD actuellement identifiées (Fig. 9). La première concerne l'apparition des souches FD 1 et FD 2. Ces souches sont identiques ou proches de certains isolats présents dans l'aulne (*Alnus glutinosa*) et auraient pu être transmises accidentellement à la vigne par *Oncopsis alni* (Homoptera : Cicadellidae) (Arnaud *et al.* 2007; Malembic-Maher *et al.* 2009) puisqu'il a été montré que cette cicadelle pouvait transmettre le phytoplasme de l'aulne à la vigne (Maixner *et al.* 2000). La deuxième hypothèse concerne la souche FD 3 (ou FD C) qui n'a été identifiée qu'en Italie. Un phytoplasme identique à cette souche a été identifié dans des clématites blanches (*Clematis vitalba*) à proximité de parcelles de vignes (Angelini *et al.* 2004). L'observation des insectes fréquentant les clématites en sous bois en Italie a permis de déceler la présence de *S. titanus* de manière sporadique sur cette plante (Angelini *et al.* 2004), mais aussi celle du fulgore *Dictyophara europaea* (Homoptera : Dictyopharidae) (Filippin *et al.* 2009). Ce dernier a été découvert porteur de phytoplasmes identique à la souche FD 3 et des essais de transmission ont montré sa capacité à inoculer la vigne (Filippin *et al.* 2009).

Les travaux d'Arnaud *et al.* (2007) soutiennent l'hypothèse d'une origine européenne de la maladie en montrant que les trois groupes de phytoplasmes responsables de la Flavescence dorée (FD 1, 2 et 3), ainsi que ceux responsables du Palatinate Grapevine Yellow de la vigne et des jaunisses de l'aulne, que l'on ne retrouve pas en Amérique du Nord, appartiennent à la même sous-clade et sont phylogénétiquement proches (Angelini *et al.* 2001; 2003; Firrao *et al.* 2005; Arnaud *et al.* 2007).

---

<sup>1</sup> Compartiment sauvage : espace hors de la zone cultivée.



**Figure 9.** Hypothèses d'introduction des souches de phytoplasmes responsables de la Flavescence dorée du compartiment sauvage à la vigne.

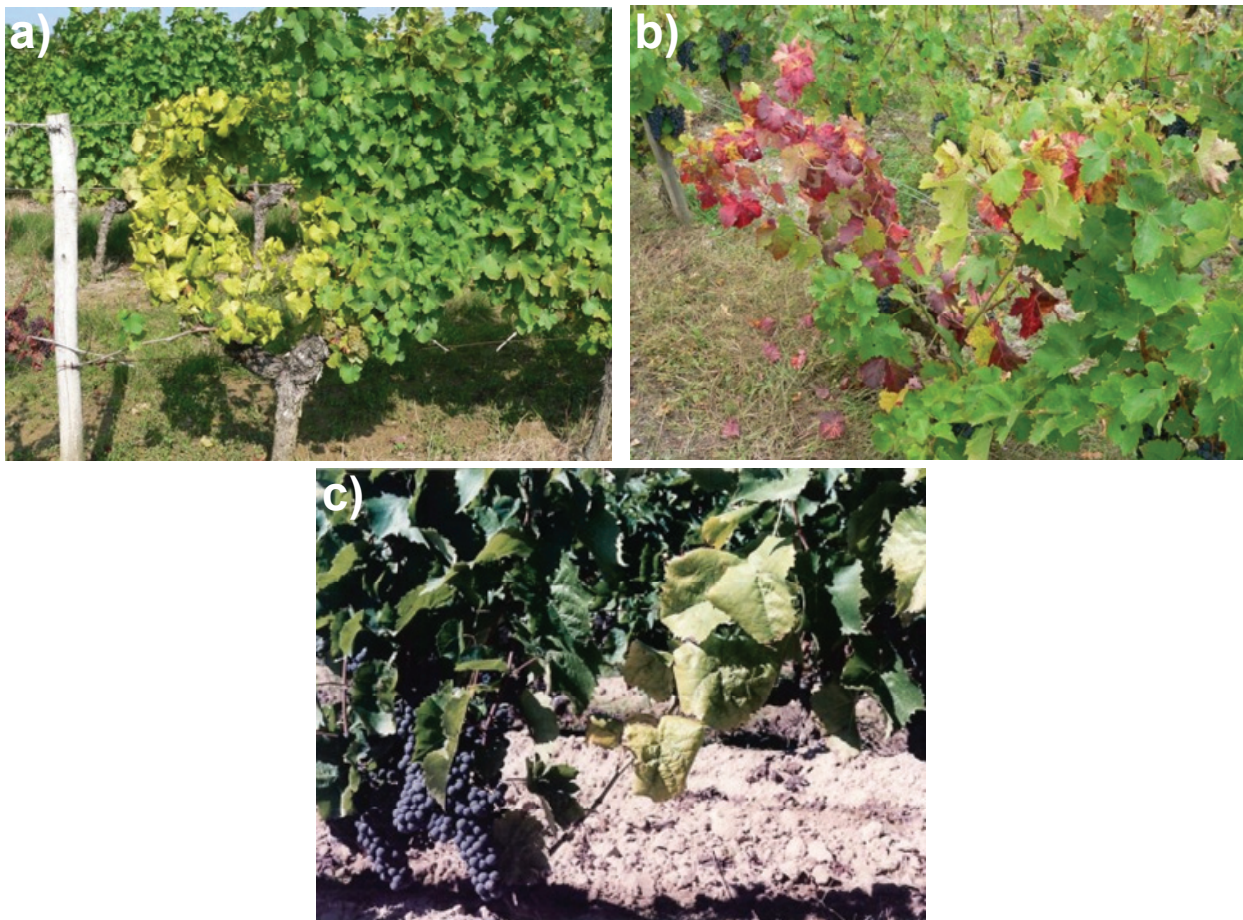
Un autre élément en faveur de l'origine européenne de la FD est les effets délétères que le phytoplasme a sur le vecteur. En effet, les individus porteurs (mâles et femelles) ont une espérance de vie très inférieure à celle des vecteurs sains et les femelles produisent moins d'œufs et ont donc une descendance moins nombreuse (Bressan *et al.* 2005b). Cet élément suggère une association récente du vecteur avec l'agent pathogène puisqu'il est communément admis que dans un tel système la pathogénicité envers le vecteur diminue au cours du temps (Weintraub & Beanland 2006). Cependant, l'homogénéité spatiale du milieu de vie de *S. titanus*, le vignoble, n'est pas favorable à une diminution de la virulence du pathogène vis-à-vis du vecteur (Elliot *et al.* 2003).

### 3. Symptomatologie et étiologie de la Flavescence dorée

Les premiers symptômes de la FD se manifestent par un débourrement tardif, voire une absence de débourrement concernant les atteintes les plus importantes (Caudwell 1964b). La croissance des rameaux atteints est inhibée et conduit à un raccourcissement des entre-nœuds. Les symptômes les plus caractéristiques apparaissent l'été. Les parties atteintes ont alors un port pleureur dû au non aoûtement (lignification) des nouvelles pousses, les feuilles durcissent, se replient vers la face inférieure et se colorent (limbe et nervures) (Caudwell 1964b) (Fig. 10 & 11). La coloration des feuilles varie en fonction du cépage puisque celles



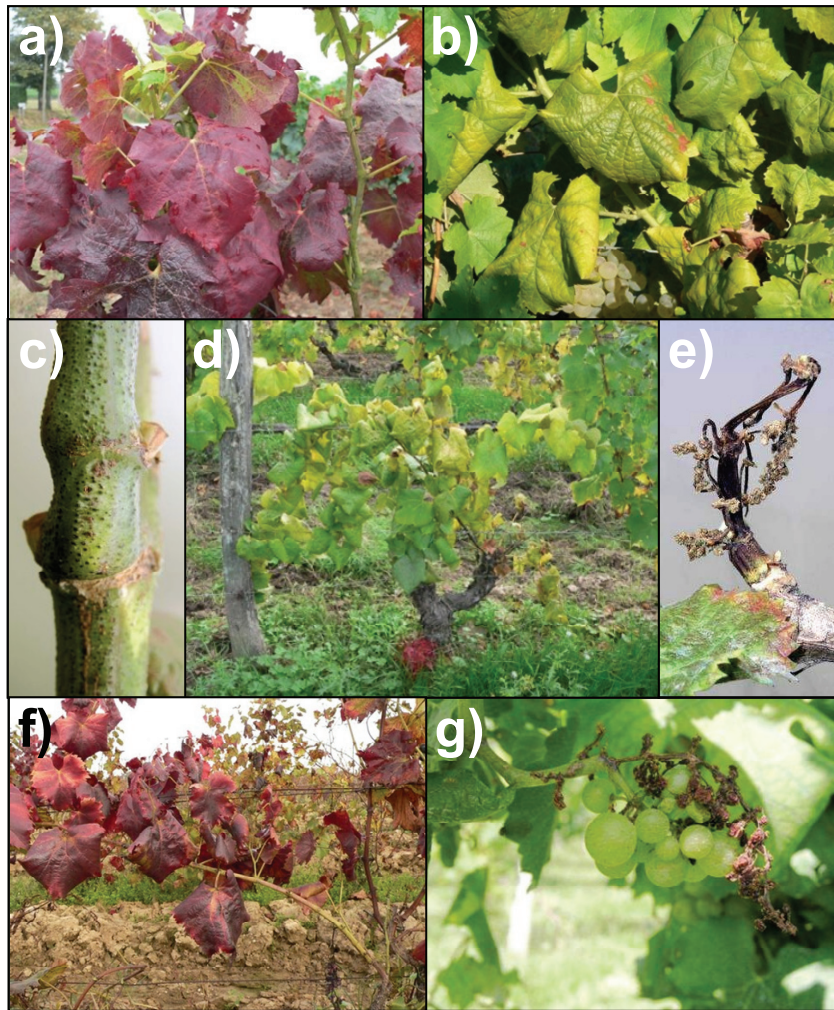
des cépages blancs deviennent jaunes, alors que celles des cépages rouges deviennent rouges (Fig. 10). Il est important de noter que cela n'est pas valable pour tous les hybrides. Ainsi le cépage Villard noir qui produit des raisins rouges voit ses feuilles qui jaunissent lorsqu'il est atteint par la FD. Cette pathologie induit aussi une mortalité des inflorescences et des baies (Caudwell 1964b). Le changement de coloration des feuilles, le non aoûtement et la mortalité des inflorescences et des baies (Fig. 11) sont les 3 symptômes qui doivent être présents simultanément et sur un même rameau pour conclure à la présence d'une jaunisse (FD, Bois noir...) (GTN-Fd 2006).



**Figure 10.** Symptômes de Flavescence dorée sur un cépage blanc (a, Sauvignon blanc), rouge (b, Cabernet Sauvignon) et un hybride (c, Villard Noir). Photos : Dominique Vergnes.

Les phytoplasmes affectent principalement les assises libériennes les plus âgées et ne sont présents qu'exceptionnellement dans le cytoplasme des cellules conductrices non complètement différenciées, le parenchyme libérien n'étant jamais colonisé (Caudwell *et al.* 1971a; Meignoz *et al.* 1992). La présence de phytoplasmes a pour conséquences des nécroses des cellules atteintes, des modifications cytologiques dont la formation d'un liber de remplacement, l'hypertrophie du parenchyme libérien, des déformations pariétales, des épaissements localisés, des dépôts de callose, une plasmolyse des cellules compagnes...

(Caudwell *et al.* 1971a; Meignoz *et al.* 1992). Les tubes criblés peuvent voir leur lumière complètement occupée par les phytoplasmes (Meignoz *et al.* 1992) et ainsi boucher les conduits phloémiens, provoquant une accumulation des produits de la photosynthèse dans la feuille et donc empêchant leur migration vers les organes de réserves (Caudwell 1983). Les conséquences de ces modifications physiologiques sont une atteinte de la vitalité des ceps due à la perturbation de la photosynthèse et du transport des nutriments, une diminution des rendements, ainsi que la qualité des raisins dont la concentration en sucre diminue et l'acidité augmente.



**Figure 11.** Symptômes de Flavescence dorée. a) coloration du limbe, b) enroulement foliaire, c) pustules sur rameau, d) port pleureur, e) dessèchement d'une inflorescence, f) non aoûtement d'un rameau, g) flétrissement d'une baie. Photos : Dominique Vergnes, sauf c), e), et g) : ERSA (<http://www.ersa.fvg.it/>).

Les symptômes n'apparaissent pas forcément tous les ans et peuvent n'être présent que sur un ou plusieurs rameaux. Tous les cépages n'ont pas la même sensibilité à la FD même si elle est difficile à déterminer. En effet, il n'y a pas de test homologué et la sensibilité d'un



même cépage peut varier selon les études (Tab. 7). Ainsi, le cépage Ugni blanc semblait peu sensible à la Flavescence dorée en Armagnac mais présentait de sévères atteintes en Corse (Caudwell *et al.* 1972). En règle générale, pour un même cépage, les symptômes observés en Corse étaient plus sévères qu'en Armagnac (Caudwell *et al.* 1974). Les hypothèses avancées sont l'existence d'une souche plus virulente en Corse, ou l'influence du climat (Caudwell *et al.* 1974). Cette dernière semble la plus probable puisque l'expression des symptômes dépend fortement des conditions climatiques, en particulier de l'ensoleillement et du stress hydrique (Caudwell 1964b). L'état sanitaire du cep pourrait aussi avoir un effet sur la tolérance de la plante à la FD. Ainsi, il a été observé que les ceps atteints du court noué sont moins susceptibles d'exprimer des symptômes que les ceps exempts de cette virose, ou alors ceux-ci sont très localisés (Caudwell 1964b). On peut supposer que le phytoplasme a du mal à coloniser la plante car il entre en compétition avec le virus et/ou que la présence du virus a modifié les propriétés du phloème (pression, concentration en nutriments, présence de molécules de défenses de la plante...), le rendant impropre à son développement.

Les pieds mères de porte greffe ne présentent pas de symptôme ou des symptômes avec différentes intensités selon le porte-greffe, mais le plus souvent difficiles à voir (Moutous & Fos 1977; Caudwell *et al.* 1994; Borgo *et al.* 2009). On peut expliquer cette faible sensibilité par le fait que les porte-greffes sont issus d'espèces de vignes américaines (*V. labrusca*, *V. riparia*...) ou de croisements avec des *V. vinifera*. Ces plantes constituent cependant des porteurs sains chez qui il n'a pas été observé de rétablissement comme chez *V. vinifera*. La FD n'est pas généralisée à tous les sarments portés par le pied mère de porte-greffe. Toutes les boutures ne seront donc pas forcément porteuses du phytoplasme même si la greffe permet le plus souvent la colonisation du greffon depuis le porte-greffe (Caudwell *et al.* 1994).

#### 4. Phénomène de rétablissement

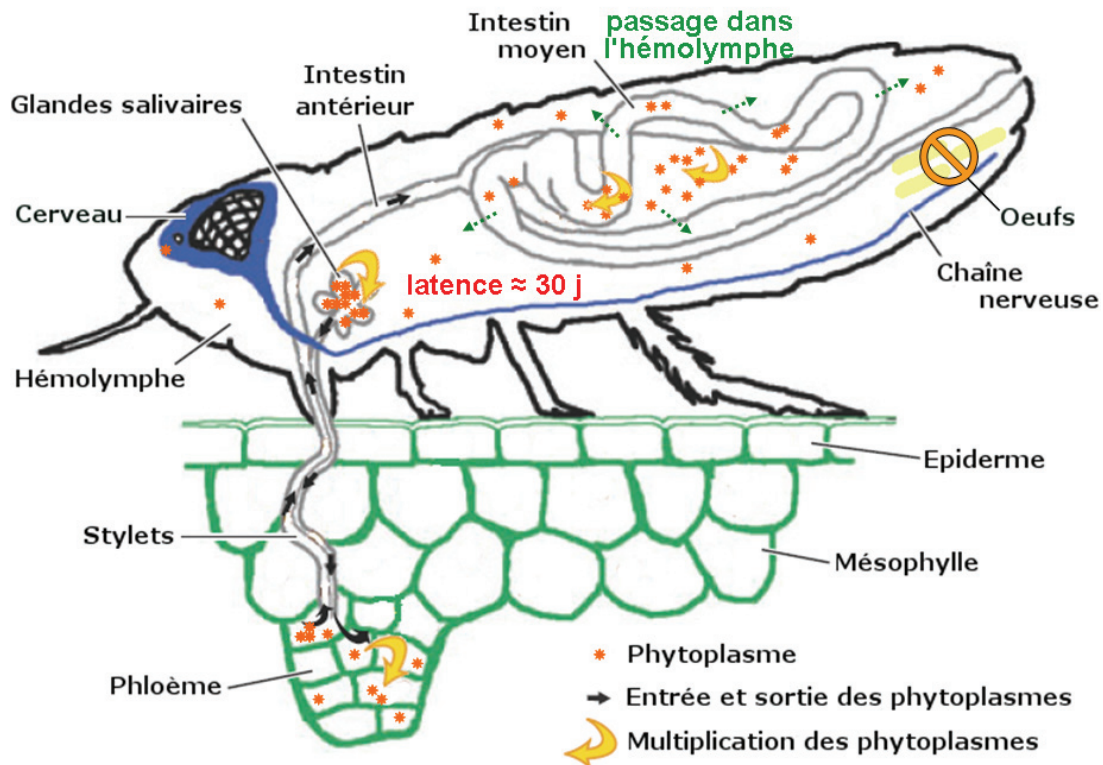
On n'observe que très rarement une mortalité totale des ceps puisque qu'il y a toujours des rejets qui se substituent aux parties mortes (Schvester *et al.* 1969). La mortalité semble en partie liée à l'âge du cep puisque celle-ci est plus importante pour les jeunes ceps (Schvester 1969). Les années suivant la première expression des symptômes peuvent voir la disparition de ceux-ci (Caudwell 1964b; Schvester 1969; Morone *et al.* 2007) sans toutefois que le cep ne soit totalement rétabli (Fig. 12). Ainsi, deux ans après la "crise" les ceps ont une productivité deux fois plus faible que des ceps sains (Caudwell 1957). La restauration des ceps est progressive et peut comporter des rechutes, même en l'absence de réinoculations (Schvester 1969). Cette restauration est brutale dès l'année suivant l'apparition des symptômes

(Caudwell *et al.* 1987). Toutefois, même asymptomatiques, les ceps peuvent toujours constituer une source de phytoplasmes et donc participer à l'expansion de l'épidémie (Schvester *et al.* 1962b), ce qui ne semble pas être toujours le cas (Galetto *et al.* 2009). Si l'on évite les réinoculations (traitements insecticides contre le vecteur), dans la grande majorité des cas les ceps se rétablissent en quatre ou cinq ans, exceptés certains cépages comme le Nieluccio et le Malvoisie de Corse qui meurent assez rapidement (Caudwell *et al.* 1974). Si une réinoculation a lieu dans les cinq années suivant la dernière infection, les symptômes sont plus faibles (Caudwell 1964a). Passé ce délai, une réinoculation conduira de nouveau à des symptômes généralisés.



**Figure 12.** Parcelle de Baco 22 A atteinte de Flavescence dorée dans le Gers en 1962 (à gauche) et en 1964 après 2 années de traitements insecticides (à droite). D'après Schvester (1969).

On peut supposer que le rétablissement des ceps est la conséquence d'une incapacité des phytoplasmes à se multiplier dans la vigne sur le long terme due au fait que le phloème de la vigne ne constitue pas un environnement optimal et/ou que la vigne peut être capable de lutter contre cet agent pathogène. Cette dernière hypothèse a été émise par Caudwell (1964b) à l'époque où la FD était considérée comme une virose. Ainsi, ce rétablissement peut être mis en parallèle avec l'augmentation de la concentration en peroxyde d'oxygène (Musetti *et al.* 2007) et l'expression de protéines putatives de défense lors de la présence de phytoplasme dans la plante (Margarita & Palmano 2009). La lutte contre les phytoplasmes a un coût pour la plante que l'on peut appréhender en greffant un greffon sain sur des porte-greffes issus de plantes rétablies de la Flavescence dorée. Les boutures obtenues n'expriment pas de symptômes et ne contiennent pas de phytoplasmes, mais au prix d'une grande mortalité des boutures, ce qui laisse supposer que l'élimination des phytoplasmes a nécessité un coût physiologique important pour la vigne (Carraro *et al.* 2009).

C. Cycle de la Flavescence dorée : de la plante à l'insecte, et *vice versa*.

**Figure 13.** Cycle de la Flavescence dorée dans le vecteur. D'après Hogenhout *et al.* (2008a).

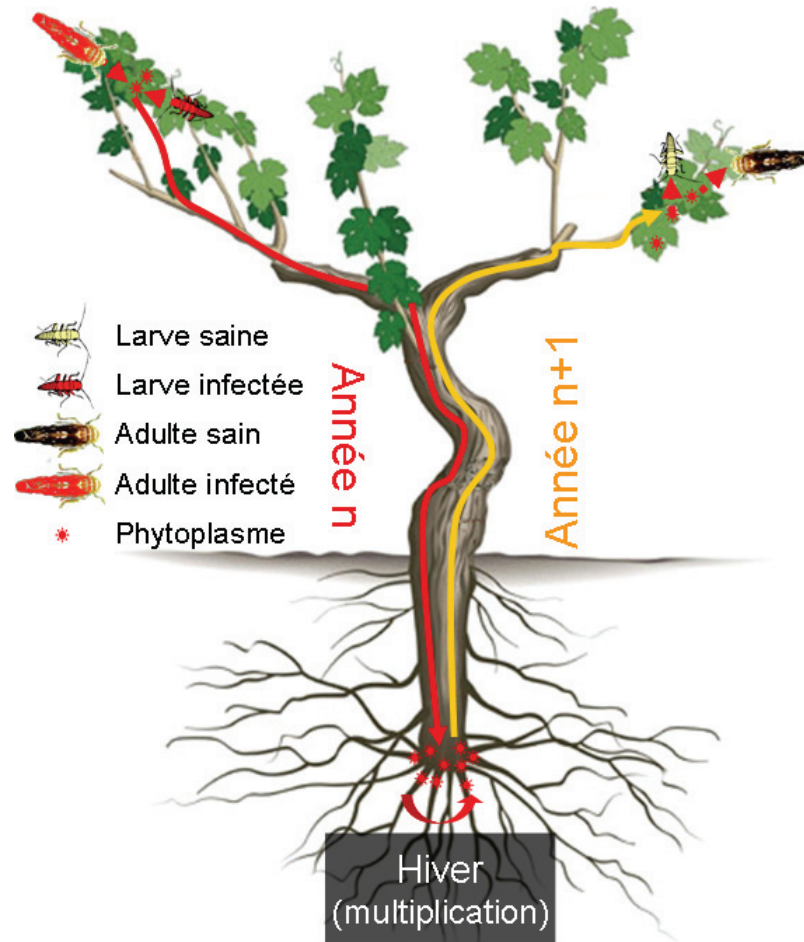
L'acquisition du phytoplasme se fait passivement lors de la prise alimentaire de l'insecte sur une plante infectée, et ce dès le premier stade larvaire (Schvester *et al.* 1969; Boudon-Padiou *et al.* 1989) (Fig. 13). Une période minimale d'alimentation sur une plante contaminée, variable selon le vecteur et le phytoplasme, est nécessaire à l'insecte pour devenir infectieux. Plus elle est longue, plus la probabilité d'acquérir le phytoplasme est grande (Purcell 1982). Une fois infecté, le vecteur le reste toute sa vie (Christensen *et al.* 2005). Le phytoplasme est aspiré dans le phloème par les stylets, puis passe à travers la barrière intestinale, rejoint l'hémolymphe et colonise la plupart des organes du vecteur. Avant que le vecteur ne devienne infectieux, une période de latence d'environ un mois pendant laquelle le phytoplasme se multiplie et colonise l'ensemble du corps du vecteur est nécessaire (Boudon-Padiou 2000; Beanland *et al.* 2006). La multiplication des phytoplasmes se fait d'abord au niveau du cytoplasme des cellules du tube digestif, plus particulièrement dans celles de la chambre filtrante, du gésier et de l'intestin moyen (Lefol *et al.* 1994). Les phytoplasmes gagnent ensuite l'hémolymphe en passant entre les cellules intestinales et colonisent tous les organes

dont le corps gras et le cerveau, mais pas les glandes sexuelles (Lefol *et al.* 1993; 1994). Les glandes salivaires sont le lieu d'une intense multiplication. La charge en phytoplasme de l'hémolymphe n'augmente qu'après celle des glandes salivaires, ce qui laisse supposer, soit que l'hémolymphe est un site tardif de multiplication, soit qu'elle est colonisée par la production des organes infectés (Lefol *et al.* 1994). Une fois que la concentration en phytoplasmes dans les glandes salivaires est assez élevée, l'agent infectieux pourra être transmis à une dose infectieuse dans une plante saine lors de chaque prise alimentaire, et ce jusqu'à la mort de la cicadelle. L'absence de phytoplasmes de la FD au niveau des organes reproducteurs rend impossible une transmission verticale du phytoplasme à la descendance. Ainsi, ce type de transmission n'a jamais été observée pour les phytoplasmes du groupe 16SrV responsable de la FD (Schvester *et al.* 1969; Bressan *et al.* 2005b). Cependant, l'existence d'un tel mode de transmission chez *S. titanus* semble dépendre du phytoplasme vecté puisque Alma *et al.* (1997) ont montré que cela était possible pour les phytoplasmes du groupe 16SrI.

Plusieurs paramètres influencent l'efficacité de la transmission de la FD. Ainsi, la capacité de transmission du phytoplasme au laboratoire est plus élevée chez les mâles que chez les femelles (Schvester *et al.* 1969). Le même phénomène a été observé pour la transmission d'une jaunisse proche de la FD par *S. titanus* dans l'état de New-York (Maixner *et al.* 1993), ainsi qu'avec le vecteur expérimental de la Flavescence dorée, *E. variegatus* (Kuszala 1986; Boudon-Padiou *et al.* 1989). De plus, la proportion de mâles porteurs du phytoplasme est plus élevée que celle de femelles en vignoble et augmente au cours de la saison pour les deux sexes (Lessio *et al.* 2009b). Si le phytoplasme peut être acquis dès l'éclosion, la proportion de vecteurs porteurs augmente avec le stade de développement (Bressan *et al.* 2006). Cette plus grande efficacité d'acquisition du phytoplasme par les stades de développement les plus âgés peut s'expliquer en partie par l'augmentation de la concentration de phytoplasme dans le phloème au cours du temps (Bressan *et al.* 2005c), et peut être par des comportements d'alimentation différents (ce dernier point sera étudié dans ce mémoire). Le cépage a aussi une influence sur l'efficacité de l'acquisition du phytoplasme par *S. titanus* puisque les cépages sensibles constituent de meilleures sources d'inoculum (Bressan *et al.* 2005c). Des concentrations de phytoplasmes différentes entre les cépages tolérants et sensibles et une éventuelle différence de comportement alimentaire entre les deux types de cépages de la part du vecteur peuvent être des explications aux différentes efficacités d'acquisition (Bressan *et al.* 2005c). L'efficacité de l'acquisition de phytoplasmes dépend aussi de l'espèce de la plante infectée. Bosco *et al.* (1997) ont montré que le même phytoplasme pouvait être acquis ou non par trois espèces de cicadelles selon l'espèce de plante hôte. C'est



ainsi que l'acquisition par *S. titanus* du phytoplasme de la FD sur la fève, plante non hôte, se fait avec une plus grande efficacité que sur la vigne (Bressan *et al.* 2005c).



**Figure 14.** Cycle de la Flavescence dorée dans un cep de vigne. L'inoculation a lieu au cours de l'année n.

Une fois les phytoplasmes injectés dans le phloème d'une plante saine, une partie gagne le système racinaire, l'autre subsistant dans les rameaux durant l'hiver (Caudwell *et al.* 1970) (Fig. 14). Au printemps suivant, les phytoplasmes, toujours via le phloème, vont coloniser les feuilles en croissance où ils constitueront une source d'infection pour *S. titanus*. Les symptômes caractéristiques n'apparaissant que l'été suivant l'inoculation (Schvester *et al.* 1969), les ceps nouvellement malades auront pu servir d'inoculum avant même que le viticulteur n'ait pu s'apercevoir de la présence de ceps malades dans sa parcelle. La dissémination de la FD au sein de la parcelle est assurée exclusivement par *S. titanus*. Ainsi, le taux d'infection dans une parcelle l'année N est fortement corrélée à la taille de la population de vecteur l'année N-1 (Morone *et al.* 2007). Ce décalage entre les deux années est facilement explicable par le délai d'une année entre l'inoculation du phytoplasme et l'expression des symptômes.

## D. Lutte contre la Flavescence dorée

### 1. Aspects réglementaires.

La FD a été déclaré organisme de quarantaine par l'Union Européenne en 1993 (directive n° 77/1993 modifiée 92/103). La déclaration de la maladie et les mesures de contrôle ont été rendues obligatoires par décret ministériel en France (17 avril 1987 et 1 Avril 1994) et en Italie (31 mai 2000).

Ces décrets rendent obligatoire en France la lutte contre la cicadelle vectrice dans les vignes mères de porte-greffes et de greffons sur tout le territoire français. De plus, en zones viticoles contaminées par la FD, un arrêté préfectoral rappelle tous les ans les articles de lois et mentionne :

- l'obligation de déclarer les cas de maladie
- les communes soumises à l'obligation de traitement
- la lutte insecticide contre l'agent vecteur avec enregistrement des traitements effectués et leurs modalités (nombre de traitements, aménagements de lutte)
- l'obligation d'arrachage des ceps ou parcelles avec destruction des repousses
- l'obligation de destruction des vignes abandonnées

Les modalités de cette lutte sont définies dans chaque vignoble par les DRAAF-SRAL. Concrètement, la lutte contre *S. titanus* est basée sur l'application de trois traitements insecticides. Le premier a lieu trente jours après le début des éclosions. Il est suivi d'une deuxième application 15 jours après. Ces deux traitements sont destinés à lutter contre les larves. Enfin, un troisième passage est réalisé au pic de population supposé d'adultes afin de détruire les dernières cicadelles présentes et d'éviter également l'arrivée d'autres spécimens dans la parcelle.

Afin de réduire la pression sur l'environnement, il existe des possibilités d'aménagement de la lutte insecticide (DGAL 2009). Celui-ci ne peut être réalisé qu'après avis consultatif d'une commission départementale présidée par le Préfet et nécessite entre autre un monitoring des populations de vecteurs.

## 2. Lutte conventionnelle



Coll. J.L. Bernard



Joseph Rahola

**Figure 15.** Lutte insecticide contre *S. titanus* dans les années 1960 en Armagnac (en haut) et en Espagne dans les années 2000 (en bas).

Il n'existe aucun moyen de lutter directement contre la FD. La lutte indirecte se fonde sur trois stratégies : utiliser du matériel de plantation sain, supprimer les réservoirs de phytoplasmes, détruire le vecteur pour éviter la dissémination des foyers de FD.

- L'utilisation de matériel sain. L'apparition de la FD à longue distance de foyers de maladie existants est due à l'activité humaine *via* le commerce de bois destinés à la plantation. Il est possible de s'assurer de sa salubrité en détruisant les phytoplasmes éventuellement contenus dans les bois de vigne, ainsi que les œufs de *S. titanus* pondus sous l'écorce, par une immersion dans de l'eau chaude (Caudwell *et al.* 1990; 1997). Ainsi, une immersion de 45 minutes dans de l'eau à 50 °C permet d'éliminer les micro-organismes et les œufs sans entraîner de mortalité de la vigne (Caudwell *et al.* 1997).

- La suppression des réservoirs de FD. L'élimination des souches malades, des vignes abandonnées, ainsi que celle des repousses de vignes sauvages, permet d'éviter la constitution de réservoirs de maladie pouvant donner lieu à une contamination des vignobles à proximité (Boudon-Padieu 2000). De plus, ces zones peuvent aussi servir de refuges au vecteur et ainsi diminuer l'efficacité de la lutte contre ce dernier (Forte *et al.* 2009).

- La destruction du vecteur (Fig. 15). La lutte contre le vecteur est principalement dirigée contre les formes mobiles (laves et adultes), et est basée sur l'utilisation d'insecticides de synthèse ou d'origine végétale (utilisables en agriculture biologique). Un traitement ovicide des souches peut aussi être réalisé l'hiver. Les essais de lutte biologique par introduction d'auxiliaires provenant de la zone d'origine de *S. titanus* ou par augmentation de populations locales se sont soldés par des échecs. Des mesures prophylactiques peuvent être utilisées pour réduire la taille des populations de vecteur dans la parcelle. La destruction des bois de taille porteurs d'œufs, permet de diminuer le nombre de *S. titanus* et donc la capacité de la FD à être transmise. La taille de la vigne a été évoquée comme une explication partielle aux différences de densité observées au début des années 1960 entre l'Armagnac et la Chalosse d'une part (taille longue) et le Bordelais d'autre part (taille plus courte) (Schvester 1962; 1962b).

### 3. Suivi des populations de vecteur

Le contrôle de la présence de larves ainsi que l'estimation de la taille des populations se fait par observation directe en comptant le nombre de larves à la face inférieure des feuilles, par battage ou par aspiration. Les adultes étant plus mobiles, l'estimation de leur présence et de l'importance des effectifs est réalisée par aspiration ou plus communément par piégeage chromatique à l'aide de plaques jaunes engluées.

Toutes ces techniques ne permettent d'avoir que des estimations et leur efficacité est très variable. Ainsi, lors de comptages après des précipitations, il a été observé la disparition des larves pendant une période pouvant aller jusqu'à 3 jours (Bernard *et al.* 1988), sans pour autant que les larves aient disparu de la parcelle. L'efficacité du piège chromatique est, bien évidemment, dépendante des conditions météorologiques (température, vent, pluie), ce qui pose le problème de la représentativité des captures dans certains secteurs. En outre il ne permet pas de rendre compte de l'importance relative des mâles et des femelles puisque le sex-ratio du piégeage est biaisé, les mâles étant davantage capturés que les femelles (Bosco *et al.* 1997; Lessio *et al.* 2009b). De plus, le sex-ratio du piégeage est très variable selon la localité où il est réalisé (Linder & Jermini 2007). Au cours de la saison, les pièges capturent principalement des mâles en début d'émergence des adultes et essentiellement des femelles en fin de saison



(Lessio *et al.* 2009b). Cette variation temporelle peut s'expliquer par le fait que les mâles émergent en premier, que leur durée de vie est plus courte (Bressan *et al.* 2005b), que ce sont les mâles qui se déplacent lors de l'accouplement (Mazzoni *et al.* 2009c) et qu'après l'accouplement les femelles doivent se déplacer pour pondre.

#### 4. Des pistes pour le futur

Malgré l'existence de méthodes de détection de résistance aux phytoplasmes (Jarausch *et al.* 1999; Sinclair *et al.* 2000; Cardeña *et al.* 2003), aucune résistance ou tolérance aux jaunisses de la vigne n'a été détectée dans les espèces de *Vitis* examinées (Laimer *et al.* 2009). Si les méthodes de sélection et de croisement ne semblent pas être porteuses de solutions à court et moyen termes, l'élaboration de vigne transgénique est une solution envisagée (Laimer *et al.* 2009). Des essais concluants ont été réalisés avec des *Paulownia sp.* exprimant des peptides antibactériens du Lépidoptère *Hyalophora cecropia* (Du *et al.* 2005). En revanche, ceux menés sur le phytoplasme du stolbur avec des plants de tabac transgéniques se sont avérés infructueux (Malembic-Maher *et al.* 2005). Si l'utilisation de vignes génétiquement modifiées pourrait s'avérer satisfaisante d'un point de vue technique, il n'est pas dit que la société accepte l'utilisation de plantes transgéniques en plein champ. Ainsi, les essais en plein champ concernant des cepes de vignes résistant au court noué, bien que réalisé en concertation avec un large public (Joly *et al.* 2004) a conduit à leur destruction en 2009 et en 2010.

Des bactéries symbiotiques du genre *Cardinium*, connues comme responsables d'altération de la reproduction et du comportement de leur hôte, ont été découvertes dans des populations naturelles de *S. titanus*, avec une haute prévalence (> 94 %), aussi bien chez les mâles que chez les femelles, au niveau de différents organes (ovaires, corps gras, intestins et glandes salivaires) (Marzorati *et al.* 2006; Sacchi *et al.* 2008). Elles ont été aussi observées dans des individus porteurs du phytoplasme coexistant avec '*Ca. Phytoplasma vitis*' au sein des mêmes organes, ce qui permet de s'interroger sur l'éventuel rôle de cette bactérie dans la transmission du phytoplasme par *S. titanus* (Marzorati *et al.*, 2006). Il a aussi été découvert des "levures-like" symbiotiques appartenant à la lignée des ascomycètes qui pourrait jouer un rôle métabolique et semblant transmissible verticalement (Sacchi *et al.*, 2008). Enfin, *S. titanus* peut aussi abriter une bactérie symbiotique du genre *Asaia* transmissible verticalement par la femelle, mais aussi par le mâle lors de l'accouplement, et qui peut être également acquise horizontalement via son alimentation (Marzorati *et al.* 2006; Crotti *et al.* 2009). Certains envisagent l'utilisation de ces symbiontes en vue de diminuer la capacité de *S. titanus*

à transmettre le phytoplasme (Marzorati *et al.* 2006; Crotti *et al.* 2009) comme il est envisagé pour certaines maladies humaines vectées (Hurd 2003; Riehle & Jacobs-Lorena 2005).

L'utilisation de phéromones en confusion sexuelle fonctionne bien sur les Lépidoptères, comme l'eudémis et la cochyliis en vigne, mais ne peut être employée pour les cicadelles qui ne communiquent pas au moyen de phéromones lors de l'accouplement. En revanche, les mâles et les femelles utilisent une communication de type vibratoire pour se rencontrer, et des essais de confusion sexuelle basée sur l'émission de vibrations ont été concluants (Mazzoni *et al.* 2009b). Cette technique n'est pas encore applicable en vignoble.

Enfin, on peut aussi envisager l'application de stratégies de type "push-pull" qui consistent à manipuler le comportement des insectes via l'utilisation simultanée de stimuli rendant la culture répulsive ou non-attractive, et d'attractants capable d'attirer les ravageurs dans une zone où ils seront détruits (Cook *et al.* 2007). La concentration des insectes dans une zone précise permet un meilleur contrôle de leurs populations ainsi que l'utilisation de plus faibles quantités d'insecticides ou de l'utilisation de méthodes alternatives. L'utilisation de cette technique contre des vecteurs de phytoplasmes en vigne a montré des résultats prometteurs contre *Hyalesthes obsoletus* en Israël (Zahavi *et al.* 2007).

**Chapitre 1**

**Influence des températures hivernales  
sur la sortie de diapause de  
*Scaphoideus titanus***

## A. Introduction

Les régions tempérées sont caractérisées par une grande saisonnalité, générant chaque année pour les insectes des périodes de croissance et de reproduction optimales limitées. La synchronisation de l'apparition des stades juvéniles avec la disponibilité en nourriture est, en particulier, une étape critique pour les insectes phytophages (van Asch & Visser 2007). Pour la plupart des espèces vivant en climat tempéré, un moyen d'échapper aux saisons défavorables telles que l'hiver est d'entrer en diapause (Tauber & Tauber 1976). La diapause est contrôlée génétiquement mais elle est régulée par les conditions environnementales, la photopériode et la température par exemple (Tauber & Tauber 1976; Denlinger 2002). Son contrôle par les facteurs environnementaux permet d'éviter une reprise du développement durant une période défavorable à l'insecte. Les dates d'entrée et de sortie de diapause sont sujettes à du polymorphisme, ce qui permet de ne pas exposer toute la population aux mêmes conditions et donc d'étalement les risques. Des stratégies d'étalement du risque ('bet-hedging') ont ainsi été mises en évidence chez différents insectes (Danforth 1999; Hopper 1999; Menu & Desouhant 2002).

Le succès reproducteur (ou valeur adaptative)<sup>1</sup> des organismes ectothermes est régulée, au travers de quelques traits d'histoire de vie, entre autres par les températures auxquelles les juvéniles et les adultes sont exposés, directement ou indirectement, avec des conséquences sur leur écologie (Huey & Berrigan 2001; Angilletta *et al.* 2009). Lorsque les œufs passent l'hiver en diapause, les températures reçues à ce stade sont souvent cruciales pour l'ensemble du cycle de développement. Les températures affectent directement la mortalité et la durée d'incubation (Howe 1967), mais peuvent aussi affecter le profil de la dynamique des populations comme le taux de développement des juvéniles. Les effets des températures froides sur la fin de la diapause et leurs conséquences sur l'émergence des insectes est bien connue (Collier & Finch 1983; Wipking 1995; Higaki & Ando 2002). De nombreuses études rapportent également les effets des températures après l'éclosion sur le développement larvaire des insectes (Nylin & Gotthard 1998). En revanche, si les températures d'incubation sont connues pour affecter le développement post éclosion chez les reptiles et les oiseaux (Shine 2004; Booth 2006; DuRant *et al.* 2010), il s'agit d'une idée nouvelle pour les insectes qu'il serait intéressant de développer.

En plus d'affecter directement la fitness (Kroon & Veenendaal 1998; Ellers & van Alphen 2002; Wang *et al.* 2006), la diapause peut l'influencer indirectement en modifiant sa synchronisation avec la ressource. Le degré de synchronisation peut être défini comme le laps

---

<sup>1</sup> On emploiera dans la suite du manuscrit l'anglicisme "fitness".

de temps entre l'apparition de l'insecte et du stade phénologique de l'hôte le plus pertinent pour le phytophage (Yukawa & Akimoto 2006; van Asch & Visser 2007). La variation du degré de synchronisation a d'importantes conséquences sur le succès reproducteur. En effet, les larves qui émergent lorsque la disponibilité en nourriture n'est pas optimale pour leur développement doivent trouver des habitats plus adaptés, ce qui induit un coût en terme de fitness (van Asch & Visser 2007). Au contraire, celles sortant de diapause au moment où leur plante hôte est la plus propice à leur développement voient leur fitness s'accroître (Dixon 1976; Watt & McFarlane 1991; Yukawa & Akimoto 2006).

Au-delà d'une simple disponibilité en nourriture, il a été montré que la synchronisation du phytophage avec sa plante hôte détermine également la qualité de la ressource alimentaire disponible (Lawrence *et al.* 1997; van Asch & Visser 2007). En effet, selon le stade de développement de la plante hôte, la composition et la texture des organes cibles diffèrent (Mattson 1980; Gould *et al.* 2007; Marchi *et al.* 2008), ce qui peut avoir des conséquences importantes sur l'insecte. Ainsi, une réduction de la qualité et/ou de la quantité de nourriture de la larve implique généralement pour l'adulte une taille plus petite et des réserves énergétiques moindres qui peuvent avoir des effets négatifs sur la fécondité et/ou le succès reproducteur des mâles (Scriber & Slansky 1981; Awmack & Leather 2002; Moreau *et al.* 2007).

La qualité de la plante est déterminée, entre autres, par sa composition chimique dont la concentration en métabolites secondaires et la teneur en azote (Mattson 1980; Awmack & Leather 2002). La teneur en azote est l'élément déterminant dans la qualité nutritive de la plante pour une grande gamme d'insectes phytophages terrestres en raison de l'importance de l'azote dans la synthèse protéique (Mattson 1980; Karley *et al.* 2002; Wilkinson & Douglas 2003). Une grande disponibilité en azote augmente ainsi le taux de développement et de survie des insectes phytophages (Hunter & McNeil 1997; Jonas & Joern 2008). La disponibilité en azote, ainsi que le ratio carbone/azote, limite donc généralement la distribution spatiale et l'accroissement des populations d'insectes (Wilkinson & Douglas 2003; Bi *et al.* 2007). *Scaphoideus titanus* s'alimente dans le phloème qui est très riche en sucres et contient une faible teneur en azote (Mattson 1980; Douglas *et al.* 2006). L'azote disponible dans le phloème se trouve sous la forme d'acides aminés libres dont la composition, particulièrement en acides aminés essentiels, détermine grandement la qualité du phloème (Wilkinson & Douglas 2003; Hunt *et al.* 2006). Le saccharose est le sucre mobile dominant du phloème chez de nombreuses plantes (Karley *et al.* 2002). Il constitue la seule source de carbone pour les insectes phloémophages et a un fort impact sur la réponse

comportementale alimentaire de part son rôle de phagostimulant (Douglas *et al.* 2006; Pescod *et al.* 2007).

*Scaphoideus titanus* souffre peu de prédation et de parasitisme en Europe, pourtant sa distribution européenne se restreint aux vignobles présents entre 35 et 50° de latitude Nord. Des facteurs climatiques pourraient expliquer cette distribution. Une hypothèse est que *S. titanus* est bien adapté aux hivers froids, conformément à son origine nord-américaine, et que la levée de sa diapause nécessite des températures hivernales suffisamment basses. La synchronisation entre l'éclosion des œufs et la phénologie de sa plante hôte, donc son succès reproducteur, dépendrait alors de cette exigence. Les résultats présentés dans ce chapitre tenteront de tester la validité de cette hypothèse en répondant aux questions suivantes :

- **L'absence de températures froides hivernales est-elle un obstacle à la levée de diapause ?**
- **Les différences de dynamiques d'éclosions observées entre vignobles peuvent-elles être dues aux températures hivernales ?**
- **Les œufs des deux sexes sont-ils affectés de manière identique par les températures durant l'hiver ?**
- **Les températures auxquelles sont soumis les œufs durant la diapause affectent-elles le développement des individus après l'éclosion ?**
- **Quel est le rôle des conditions thermiques hivernales sur la synchronisation de *S. titanus* avec la vigne ?**

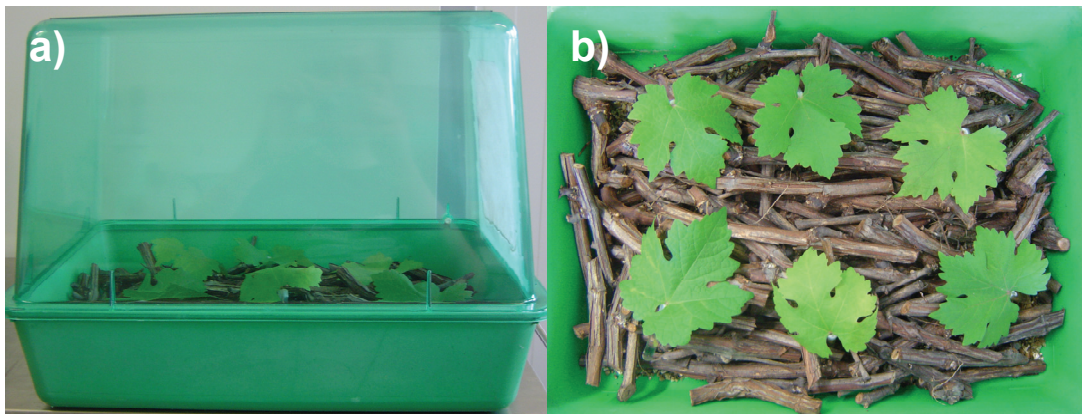
## B. Matériels et méthodes

### 1. Insectes

Les populations d'œufs de *S. titanus* ont été obtenues suivant la méthode décrite par Caudwell *et al.* (1970). Des bois âgés d'au moins deux ans ont été collectés dans des vignobles en agriculture biologique dans lesquels d'importantes populations avaient été observées pendant plusieurs années successives et durant l'été précédent. Les bois de 20-25 cm de long ont été répartis aléatoirement en lots de masses équivalentes et déposés dans des

boîtes d'éclosion en plastique (50 x 38 x 36 cm ; Fig. 16) dans une chambre climatique avec une photopériode 16:8 (jour:nuit), une température de  $23 \pm 1$  °C et une humidité relative de 65 - 70 %. Afin d'éviter la dessiccation des œufs, environ 1 cm de vermiculite (Efisol, France) a été déposée dans le fond de la boîte et maintenue humide à l'aide d'eau purifiée (qualité HPLC).

Afin de récupérer les larves, six feuilles de vigne provenant de boutures de cépage Cabernet Sauvignon produites en serre ont été disposées au-dessus de la couche des bois (Fig. 16). Elles sont maintenues en survie en immergeant leur pétiole dans des tubes en verre contenant de l'eau et fermés hermétiquement par du Parafilm (Pechiney Plastic Packaging Company, Chicago, USA). Les feuilles ont été remplacées dès qu'elles commençaient à flétrir. Dans chaque cage, les larves écloses ont été prélevées tous les jours sur les feuilles à l'aide d'un aspirateur à bouche. Chaque larve récoltée était comptabilisée comme un œuf éclos. Les observations ont été arrêtées après une semaine sans éclosion.



**Figure 16.** Cage d'éclosions en vue latérale (a) et de dessus (b).

La biologie de cet insecte rend la réalisation des expérimentations assez compliquée. En effet, l'élevage de *S. titanus* est pour l'instant infructueux. La difficulté vient du fait qu'il s'agit d'un insecte univoltin avec une diapause obligatoire qui ne peut être levée plus précocement que dans la nature, c'est-à-dire après plusieurs mois. Les travaux présentés dans cette thèse ont donc tous été réalisés avec des individus issus de populations sauvages. L'approvisionnement en œufs a donc conditionné la réalisation de chaque année d'expérimentation. Il a nécessité de trouver des parcelles avec de fortes populations l'année précédente et n'ayant pas fait l'objet de traitements insecticides. Cela a écarté toutes les zones où avaient été recensés des cas de FD puisque le statut de maladie de quarantaine rend obligatoire les traitements dirigés contre le vecteur. Les zones de traitements obligatoires, la gestion des parcelles de vigne par les viticulteurs (traitements, taille...), ainsi que les périodes



de récoltes pour les expérimentations variant d'une année sur l'autre, plusieurs provenances de bois, et donc d'œufs, ont été utilisées au cours de ce travail de thèse.

Les femelles insérant profondément les œufs dans l'écorce, aucun comptage préalable des œufs ne peut être réalisé en raison du risque de destruction lors de la dissection de l'écorce. Par conséquent, aucune méthode fiable ne peut être utilisée pour compter le nombre d'œufs présents à l'origine sous les écorces. On ne peut donc pas quantifier la taille de l'échantillon d'insectes dont on disposera pendant une année. De plus, les éclosions étant étalées, il est difficile de pouvoir obtenir, après plusieurs semaines d'incubation, de grandes quantités d'insectes du même âge à la même date. La forte protandrie de ce vecteur rend aussi très compliquée toute tentative d'obtention simultanée de mâles et de femelles du même âge.

Enfin, l'utilisation d'insectes sauvages, par rapport à des insectes d'élevages, induit une forte variabilité interindividuelle à laquelle s'ajoute une variabilité inter-populationnelle due à la difficulté de pouvoir s'approvisionner tous les ans au même endroit. En revanche, l'utilisation d'individus sauvages permet de s'affranchir des risques de dérives génétiques que l'on peut rencontrer dans les élevages et qui peuvent conduire à l'observation de comportements ou de traits d'histoire de vie non représentatifs de la population sauvage (Meats *et al.* 2004; Matsuyama & Kuba 2009; Gonzalez *et al.* 2010).

## 2. Effet "cépage"

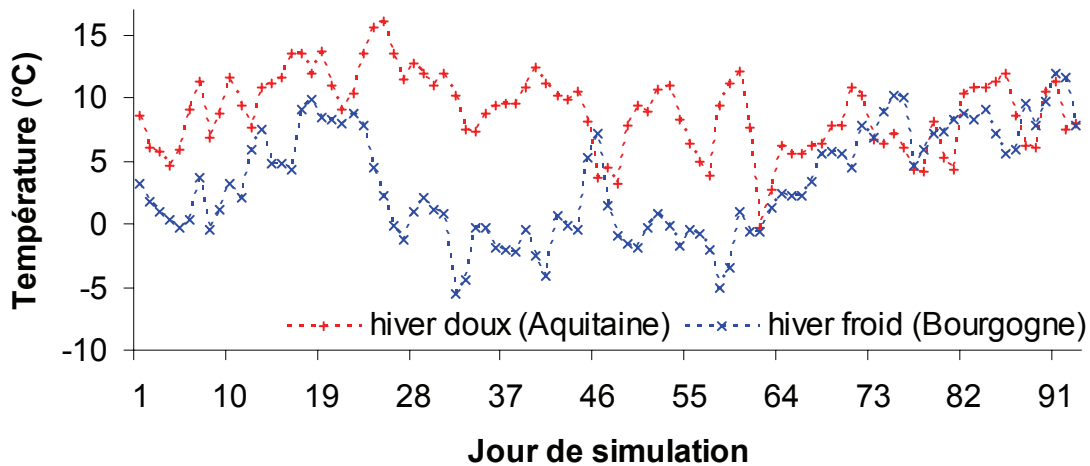
Les individus utilisés dans cette expérimentation sont issus d'œufs récoltés au mois de janvier sur un vignoble à Gardegan et Tourtirac (33). Les bois ont ensuite été entreposés à l'obscurité dans une chambre froide à  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ . Afin de tester l'influence du cépage sur la dynamique d'éclosion des œufs, la moitié des bois a été mise à incuber (*cf.* paragraphe "Insectes", p. 74) en présence de feuilles de Cabernet Sauvignon, l'autre en présence de feuilles de Cinsault. Le premier est un des cépages principaux de la région d'origine des œufs alors que le second est un cépage méditerranéen. Ils possèdent des caractéristiques différentes en termes de précocité puisque le Cabernet Sauvignon nécessite 840 degrés jours pour initier son débourrement, contre 600 pour le Cinsault (van Leeuwen *et al.* 2008). Six répétitions de 2 kg de bois ont été réalisées pour chacun des deux cépages.

## 3. Effet de la durée d'exposition des œufs au froid

Afin de tester l'influence de la quantité de froid reçue par les œufs sur la dynamique d'éclosions, nous avons soumis des lots de bois récoltés début janvier, sur la même parcelle que pour l'expérience "effet cépage", à un passage en chambre froide à  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  plus ou moins long avant d'être exposé à  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  (*cf.* paragraphe "Insectes", p. 74). Les durées préalables

d'exposition au froid ont été : 0, 20, 28, 36, 49 et 63 jours. Pour chaque durée d'exposition au froid, deux répétitions de 2 kg de bois de sarments ont été effectuées.

#### 4. Simulations hivernales



**Figure 17.** Températures journalières d'exposition des œufs de *S. titanus*.

Dans le but d'étudier l'effet des températures hivernales et de la photopériode sur la dynamique d'éclosion des œufs, des bois porteurs d'œufs issus d'une même parcelle de l'Unité expérimentale de Couhins (INRA, Villenave d'Ornon, 33) ont été soumis soit à un régime thermique de type "froid" (Bourgogne), soit à un régime de type "doux" (Aquitaine). Pour cela, 24 kg de bois récoltés début novembre et avant les premiers froids ont été utilisés. Ils ont ensuite été disposés aléatoirement dans 12 cages d'éclosion. Celles-ci ont ensuite été réparties dans 4 chambres climatiques (PR-25T, ESPEC Corp.) avec les caractéristiques suivantes :

- hiver "froid", photopériode de jours courts 8:16 (jour:nuit)
- hiver "froid", obscurité
- hiver "doux", photopériode de jours courts 8:16 (jour:nuit)
- hiver "doux", obscurité

Les simulations hivernales ont été réalisées en se basant sur les températures moyennes journalières enregistrées aux mêmes dates lors de l'hiver 2000-2001 par des stations météorologiques basées à Beaune (21) et Castillon-la-Bataille (33) (Fig. 17). Lors des 93 jours de simulations, les œufs exposés à l'hiver froid ont reçu 298,2 degrés jours contre 821,4 pour ceux exposés à l'hiver doux. Les cages sont changées de place toutes les semaines au sein d'une même chambre climatique afin d'éviter un potentiel gradient thermique et un éclairage homogène des boîtes. A la fin des 3 mois de simulation, les cages d'éclosion ont été mises dans la salle d'incubation (*cf.* paragraphe "Insectes", p. 75).

## 5. Etude du besoin de froid comme caractère indispensable à la levée de la diapause

*Scaphoideus titanus* est décrit comme passant l'hiver à l'état d'œuf diapausants ne pouvant reprendre son développement qu'après une exposition à des températures froides (Caudwell *et al.* 1970). Pour étudier le caractère obligatoire d'une exposition des œufs à des températures froides, 24 kg de bois ont été collectés dans une même parcelle à Barsac (33) fin octobre avant que l'hiver ne commence. Les bois ont été répartis dans 12 boîtes de 2 kg chacune dont la moitié a été placée dans des chambres climatiques (PR-25T ; ESPEC Corp., Osaka, Japon) à une température constante de 5 °C et l'autre moitié à 20 °C constant. Ainsi, la moitié des œufs aura passé 3 mois d'hiver à 5 °C et l'autre un hiver sans température froide (20 °C). Comme dans le paragraphe précédent, les cages ont été déplacées toutes les semaines et mises en incubation au bout de 3 mois.

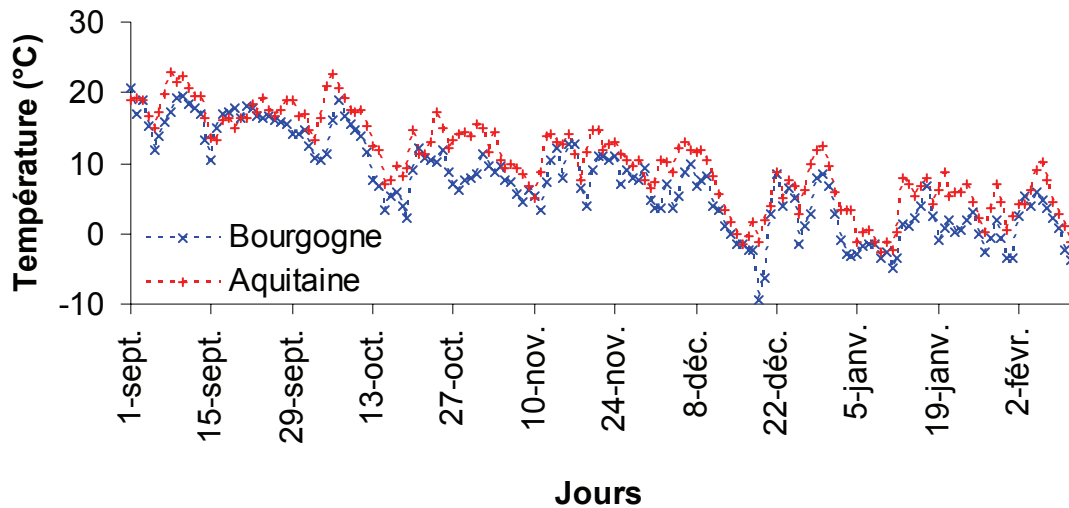
En plus de l'importance de l'existence de température froides sur les éclosions, les conséquences des températures sur quelques traits d'histoire de vie individuels (taille, poids, vitesse de développement) et populationnel (sex-ratio) ont été mesurées. Pour cela, une fois par semaine, une cohorte d'individus éclos le même jour a été installée dans une cage d'élevage (même modèle que les cages d'éclosion) avec 2 boutures de cépage Cabernet Sauvignon à partir du premier jour où les éclosions ont dépassé 100 individus et jusqu'à ce que le nombre d'éclosion descende en dessous de cette valeur. Quarante individus choisis aléatoirement sont mesurés à partir du jour de collecte, et jusqu'à ce que tous les individus soient devenus adultes. La mesure est prise de l'extrémité de la tête (hors antennes) à celle du telson sous une loupe binoculaire à l'aide d'un micromètre et pesés à partir du stade L4. Le stade larvaire a été déterminé et les individus ont été sexés à partir du stade L5 (Della Giustina *et al.* 1992). Un indice de développement inspiré de celui développé par Bird et Hodkinson pour les psylles (2005) a été adapté afin de pouvoir comparer le stade de développement des populations de *S. titanus* issus d'œufs soumis à 5 ou 20 °C :

$$ID = \sum_{i=1}^6 (n_i \cdot i) / T$$

où  $T$  = nombre total de *S. titanus*,  $i$  = stade de développement (1<sup>er</sup> stade larvaire = 1... 5ème stade larvaire = 5, adulte = 6) et  $n_i$  = nombre d'individus au stade  $i$ .

## 6. Importance des températures hivernales sur la synchronisation de *S. titanus* avec la vigne (bois coupés)

Les reprises du développement de la vigne et de *S. titanus* dépendent des températures hivernales. Pour étudier la synchronisation de *S. titanus* avec la vigne, nous avons utilisé des bois de vigne récoltés à Gardégan et Tourtirac (33) et Moroges (71) afin d'avoir des conditions de températures hivernales distinctes (Fig. 18), ainsi que des cépages à précocité différentes, respectivement du Cabernet Sauvignon et du Pinot noir. Ils ont ensuite été mis en incubation (conditions décrites dans le paragraphe "insectes") le 12 février. Les bois ont été récoltés durant l'hiver après la taille des ceps (*cf.* paragraphe "Insectes", p. 74). En plus du dénombrement journalier de larves écloses, le nombre de bourgeons ayant débouffé sur les bois a été comptabilisé.



**Figure 18.** Moyenne des températures journalières d'exposition des œufs de *S. titanus* à Gardégan et Tourtirac (Aquitaine) et Moroges (Bourgogne) lors de l'hiver 2009-2010.

## 7. Importance des températures hivernales sur la synchronisation de *S. titanus* avec la vigne (ceps en pots)

La phénologie de la vigne varie d'un cépage à un autre (van Leeuwen *et al.* 2008) et peut affecter la synchronisation de *S. titanus* avec la vigne. Pour étudier cela, des ceps en pots de Cabernet Sauvignon, de Cabernet Franc et de Chasselas, présentant une phénologie respectivement tardive, intermédiaire et rapide, ont été utilisés (van Leeuwen *et al.* 2008). Dans une serre "insect-proof", dix ceps en pots de chaque cépage ont été exposés à partir de juillet à des larves et adultes de *S. titanus* dans l'optique d'obtenir des pontes sur les ceps et d'examiner la synchronisation de l'éclosion des œufs et du débouffement des ceps. Afin de simuler des conditions hivernales contrastées, les ceps ont été séparés en deux lots et disposés

dans deux chambres climatiques respectivement à 5 et 20 °C pendant 3 mois à partir de fin novembre. Avant cette date, les ceps n'ont pas été exposés à des températures froides en serre. Les ceps ont ensuite été exposés aux mêmes conditions de températures ( $20 \pm 1^\circ \text{C}$  constant) et de photopériode 16:9 (jour:nuit). Des boutures de vigne ont été déposées au pied des ceps afin de récupérer les éventuelles cicadelles écloses avant le débourrement des bourgeons. Les nombres de bourgeons ayant débourré, de feuilles étalées sur chaque rameau et de cicadelles écloses ont été dénombrés tous les jours.

### **8. Importance de l'âge de la ressource sur la fitness de *S. titanus***

Afin d'étudier l'influence de la synchronisation des éclosions de larves avec le débourrement des bourgeons de la vigne sur la qualité de la ressource alimentaire et les traits d'histoire de vie de *S. titanus*, des individus ont été élevés sur des boutures de stade phénologique 5 à 6 feuilles, et d'autres sur des boutures de stade phénologique 20 feuilles (Fig. 19).

Pour cela, des individus issus de deux populations différentes, Gardégan et Tourtirac (33) et Moroges (71), et éclos le même jour ont été utilisés. Il y a donc quatre modalités :

- insectes d'Aquitaine élevés sur jeunes boutures
- insectes d'Aquitaine élevés sur boutures âgées
- insectes de Bourgogne élevés sur jeunes boutures
- insectes de Bourgogne élevés sur boutures âgées

Afin d'homogénéiser la surface foliaire des deux traitements et pour que la ressource alimentaire ne soit pas un facteur limitant, deux boutures âgées ont été placées dans chaque cage d'élevage, et six dans les cages de jeunes boutures. Toutes les boutures sont de cépage Cabernet-Sauvignon et sont remplacées toutes les trois semaines. L'extrémité apicale des boutures âgées ont été enfermées dans des boîtes en plastique munies d'un voile "insect-proof" afin d'isoler les plus jeunes feuilles de la bouture (Fig. 19). Aucune taille n'a été réalisée en raison du risque potentiel de changements physiologiques de la bouture induits.

Le mode opératoire et les traits mesurés sont les mêmes que dans le paragraphe "Etude du besoin de froid comme caractère indispensable à la levée de la diapause" (p. 78).



**Figure 19.** Boutures de vigne de stade 5-6 feuilles (à gauche) et 20 feuilles (à droite). L'extrémité apicale de la bouture de droite est isolée dans une boîte en plastique muni d'un voile "insect-proof".

### 9. Variation de la qualité de phloème avec l'âge de la feuille

La qualité du phloème de feuilles issues de jeunes boutures, de feuilles apicales (jeunes) et basales (âgées) de boutures âgées (*cf.* "Importance de l'âge de la ressource sur la fitness de *S. titanus*", p. 81) ont été analysées par chromatographie en phase liquide (HPLC) afin d'étudier la variation de la qualité du phloème en fonction de l'âge de la ressource alimentaire. La qualité du phloème a été déterminée par sa composition en acides aminés et en saccharose.

#### a) Obtention du phloème

Le phloème des feuilles a été collecté selon la technique modifiée d'exsudation proposée par King et Zeevaart (1974). Le pétiole des feuilles a été coupé au niveau de la jonction avec le rameau à l'aide de ciseaux fins puis nettoyé par trempage dans une solution de Na<sub>2</sub>EDTA 20 mM. Les pétioles ont ensuite été immédiatement recoupés à l'aide d'une lame de rasoir dans une goutte de solution de Na<sub>2</sub>EDTA 20 mM déposée sur une lame de verre, puis immergés dans un tube Eppendorf de 1,5 ml contenant 200 µL de Na<sub>2</sub>EDTA 20 mM. Les feuilles en exsudation ont été déposées dans une boîte en polystyrène opaque contenant une solution saturée de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, afin de maintenir une humidité proche de la saturation afin de limiter l'évapotranspiration. Elles ont ensuite été mises en incubation durant 20 heures dans une enceinte climatique (Eurotherm 94 ; Facis S.A. France) à 20 °C avec une humidité relative proche de la saturation.

Pour chaque feuille exsudée, 50 µL d'exsudat ont été prélevés et transférés dans un tube Eppendorf puis conservés à -20 °C avant analyse de la concentration en saccharose. Le volume restant d'exsudat a été déshydraté à l'aide d'un évaporateur 'speed vac' (RC 1010, Jouan, Winchester, USA) puis conservé à -20 °C jusqu'à analyse de la composition en acides aminés. De même, les feuilles exsudées ont été conservées à -20 °C avant mesure de leur surface foliaire.

### b) Composition en acides aminés

Les exsudats ont été repris dans 30 µl d'acide chlorhydrique à 0,1 mol.l<sup>-1</sup> avant d'être séparés par chromatographie en polarité à phase inverse (HPLC) à l'aide d'un Hewlett Packard HP Agilent série 1100 avec passeur d'échantillons G1313A et une colonne C18 ZORBAX Eclipse AAA 4,6\*150 mm à 40 °C. La dérivation des composés a été réalisée à l'aide de l'*o*-phthaldialdéhyde (OPA) et du 9-fluoreméthylchloroformate (FMOC) suivant la méthode décrite par Jones *et al.* (1981). La détection des acides aminés a été assurée par un détecteur à fluorescence (FLD, 340 nm). Les acides aminés ont été quantifiés par comparaison avec le mélange standard Amino Acid Supplement (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) supplémenté avec l'asparagine, la glutamine, la norvaline et le tryptophane. Vingt et un acides aminés ont été pris en compte dont les dix acides aminés, dit essentiels, aux insectes pour la synthèse protéique (Tab. 9).

**Tableau 9.** Liste des acides aminés recherchés. Les acides aminés essentiels sont en gras (Karley *et al.* 2002).

Alanine (Ala)	<b>Lysine (Lys)</b>
Arginine (Arg)	<b>Méthionine (Met)</b>
<b>Asparagine (Asn)</b>	Norvaline (Nor)
Asparate (Asp)	<b>Phénylalanine (Phe)</b>
Cystéine (Cys)	Proline (Pro)
Glutamate (Glu)	Sérine (Ser)
Glutamine (Gln)	<b>Thréonine (Thr)</b>
Glycine (Gly)	<b>Tryptophane (Trp)</b>
<b>Histidine (Hist)</b>	Tyrosine (Tyr)
<b>Isoleucine (Ile)</b>	<b>Valine (Val)</b>
<b>Leucine (Leu)</b>	

### c) Concentration en saccharose

La teneur en saccharose des échantillons a été quantifiée selon la méthode de Dahlqvist (cité par Ashford *et al.* 2000). Les échantillons étant très concentrés en saccharose, chaque échantillon a été dilué au dixième dans de l'eau ultrapure (qualité HPLC). Le saccharose a



ensuite été hydrolysé en glucose par ajout de 10  $\mu\text{L}$  d'invertase à 10  $\text{u.i.ml}^{-1}$  dissout dans une solution tampon d'acétate à 100  $\text{mmol.l}^{-1}$  (pH 4,5) pendant 30 minutes à 37 °C. Le glucose produit a alors été déterminé à l'aide du kit glucose essai Sigma en spectrophotométrie à 540 nm (UV-1605 ; Shimadzu, Kyoto, Japon) et comparé à une gamme étalon glucose de 10 à 50  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ . Dans le cas d'échantillons présentant une concentration en saccharose en dehors de la gamme, une deuxième quantification a été réalisée avec une dilution au vingtième puis si nécessaire au quarantième.

#### d) Surface foliaire

Les quantités de saccharose et d'acides aminés mesurées ont été rapportées à la surface des feuilles afin de pouvoir comparer les teneurs entre feuilles de différentes surfaces. Il a en effet été montré que la surface foliaire est corrélée à la teneur totale d'azote dans la feuille (van Wijk *et al.* 2005). La surface de chaque feuille exsudée a été mesurée après décongélation à l'aide d'un planimètre LI-3100 Area meter (Li-Cor, Lincoln, USA).

### 10. Analyses statistiques

L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel de statistique R 2.8.1 (R Development Core Team 2007).

#### a) Dynamiques d'éclosion

Les dynamiques d'éclosion ont été comparées avec les tests de log-rank et de Gehan-Wilcoxon. Le test de log-rank prend en compte tous les évènements survenant pendant la période d'observation alors que le test de Gehan-Wilcoxon donne plus de poids aux évènements précoces (Pyke & Thompson 1986). Le premier permet donc une étude générale des profils d'éclosions, alors que le second permet de mieux comparer la précocité des éclosions. Les variations journalières du nombre d'éclosion ont été comparées grâce au test de corrélation de Spearman.

#### b) Traits d'histoire de vie

Les tailles et poids de chaque stade larvaire, ainsi que les indices de développement aux mêmes dates, ont été comparés à l'aide d'un test non paramétrique de Mann-Whitney.

Dans l'expérience où les insectes sont alimentés sur boutures jeunes ou âgées, les indices de développement ont été analysés à l'aide d'une ANCOVA avec la ressource alimentaire

comme covariable entre chaque condition et pour chaque région d'origine (Garcia-Berthou 2001).

### c) Synchronisation des éclosions avec le débourrement des bourgeons de vigne

L'existence d'une synchronisation des insectes provenant de Bourgogne et d'Aquitaine avec leur cépage d'origine, respectivement Pinot noir et Cabernet Sauvignon, a été testée par l'analyse des nombres cumulés d'éclosion et de bourgeon ayant débourré à l'aide d'une corrélation de rang de Spearman.

### d) Composition chimique du phloème de vigne

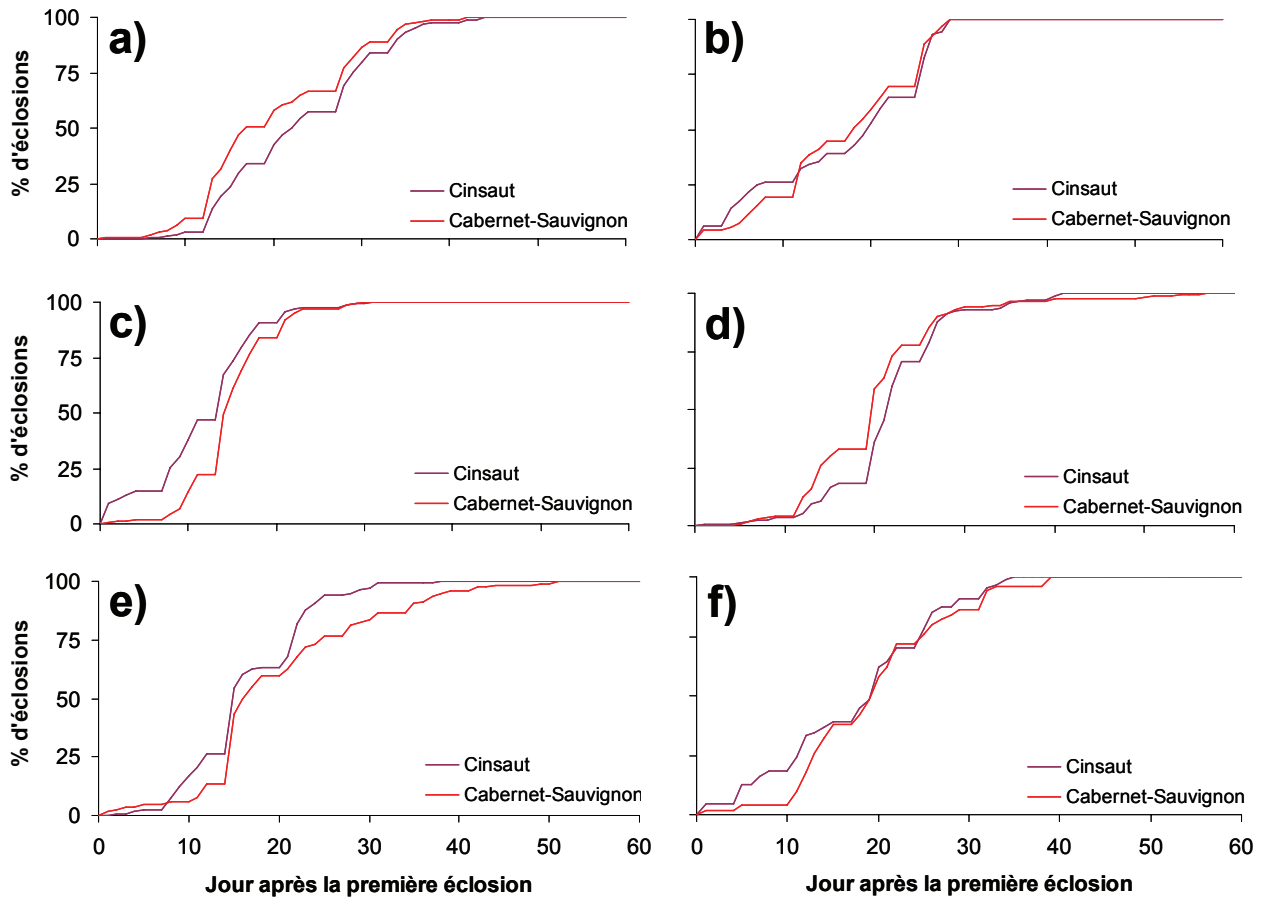
Afin d'éviter tout biais dans les analyses statistiques, les exsudats ne présentant pas de saccharose ont été écartés du jeu de données car cette absence pouvait traduire une mauvaise exsudation de ces échantillons. Au préalable de chaque analyse, la normalité (test de Shapiro-Wilk) et l'homogénéité des variances (test de Levene) ont été vérifiées avant d'appliquer les tests adéquats.

La composition en acides aminés du phloème des feuilles a été comparée en fonction du stade phénologique par une analyse de variance multivariée non paramétrique (NPMANOVA), réalisée avec 1000 permutations afin de réaliser un test au seuil  $\alpha = 0,05$  (Anderson 2001). N'ayant aucune possibilité de faire de comparaison de groupes *a posteriori* lorsque l'effet d'un facteur est significatif, des comparaisons deux à deux ont ensuite été réalisées afin d'en comparer les modalités. Une analyse en composante principale (ACP), incluant l'ensemble des données sur les acides aminés préalablement standardisées par une transformation logarithmique, a été utilisée afin d'explorer l'impact de l'âge des feuilles sur la composition en acides aminés des exsudats de phloème.

Les concentrations en acides aminés totaux et saccharose, ainsi que les ratios saccharose:acides aminés (C:N) des différentes catégories de feuilles ont été comparés à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis. Pour chaque comparaison, un test *a posteriori* de Nemenyi a été utilisé afin de préciser entre quelles catégories de feuilles les différences étaient significatives.

## C. Résultats

## 1. Effet "cépage"



**Figure 20.** Pourcentages cumulés d'éclosion d'œufs de *S. titanus* au cours du temps en présence de feuilles de Cabernet Sauvignon ou de Cinsault pour les six répétitions a) à f).

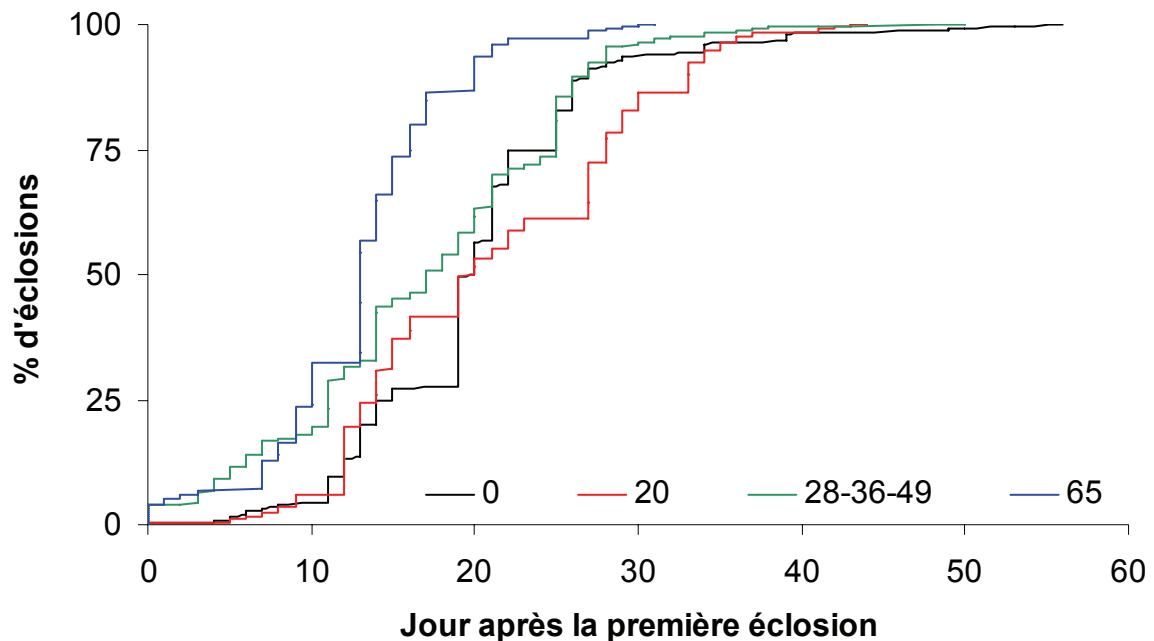
Pour les deux répétitions b) et f), les dynamiques d'éclosions ne sont pas significativement différentes (Fig. 20 et Tab. 10). Les profils d'éclosions des œufs de *S. titanus* au cours du temps sont en revanche significativement différents selon le cépage mis dans la cage d'émergence pour les quatre autres répétitions (Fig. 20 et Tab. 10). Cependant, les résultats sont contradictoires. Ainsi, les éclosions au contact de Cabernet Sauvignon ont été plus précoces et moins étalées qu'en présence de Cinsault pour les répétitions a) et d), alors que les effets des 2 cépages ont été inversés lors des répétitions c) et e) (Fig. 20). Devant ces résultats contradictoires, il est donc impossible de conclure à une quelconque influence du cépage.

**Tableau 10.** Tests de Log-rank et de Gehan-Wilcoxon pour les différentes répétitions de l'expérimentation "effet cépage".

		a	b	c	d	e	f
Log rank	$\chi^2$	33,50	1,78	76,04	4,82	16,39	0,90
	p	< 0,001	> 0,05	< 0,001	< 0,05	< 0,001	> 0,05
Gehan-Wilcoxon	$\chi^2$	47,67	0,44	141,54	14,32	9,28	0,93
	p	< 0,001	> 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	> 0,05

## 2. Effet de la durée d'exposition des œufs au froid

La durée d'exposition des œufs à 5 °C a affecté significativement les dynamiques d'éclosion ( $N = 6$  ;  $\chi^2 = 834,98$  ;  $P < 0,001$ ) (Fig. 21). Quatre classes de dynamiques se détachent statistiquement : les classes 0 jours, 20 jours, 28-36-49 jours et 63 jours (Tab. 11).



**Figure 21.** Pourcentages cumulés d'éclosion d'œufs de *S. titanus* au cours du temps en fonction de la durée d'exposition au froid (en jours). Pour une meilleure visibilité, les courbes ne présentant pas de différences significatives ont été regroupées.

Le début des éclosions est négativement corrélé avec la durée d'exposition au froid ( $N = 8$  ;  $r_s = -0,97$  ;  $P < 0,001$ ), tout comme le temps nécessaire pour atteindre les 50 % d'éclosions ( $N = 8$  ;  $r_s = -0,87$  ;  $P < 0,001$ ). Le nombre de jours écoulés avant la première éclosion diminue avec le nombre de jours à 5 °C. De plus, la première éclosion est précoce et plus les 50 % d'éclosion sont rapidement atteints ( $N = 8$  ;  $r_s = 0,82$  ;  $P < 0,001$ ). La durée de la période

d'éclosion n'est pas affectée par la durée d'exposition à des températures froides (N = 8 ;  $r_s = 0.12$  ;  $P > 0,05$ ).

**Tableau 11.** Tests de Log-rank et de Gehan-Wilcoxon entre les différentes durées d'exposition d'œufs au froid.

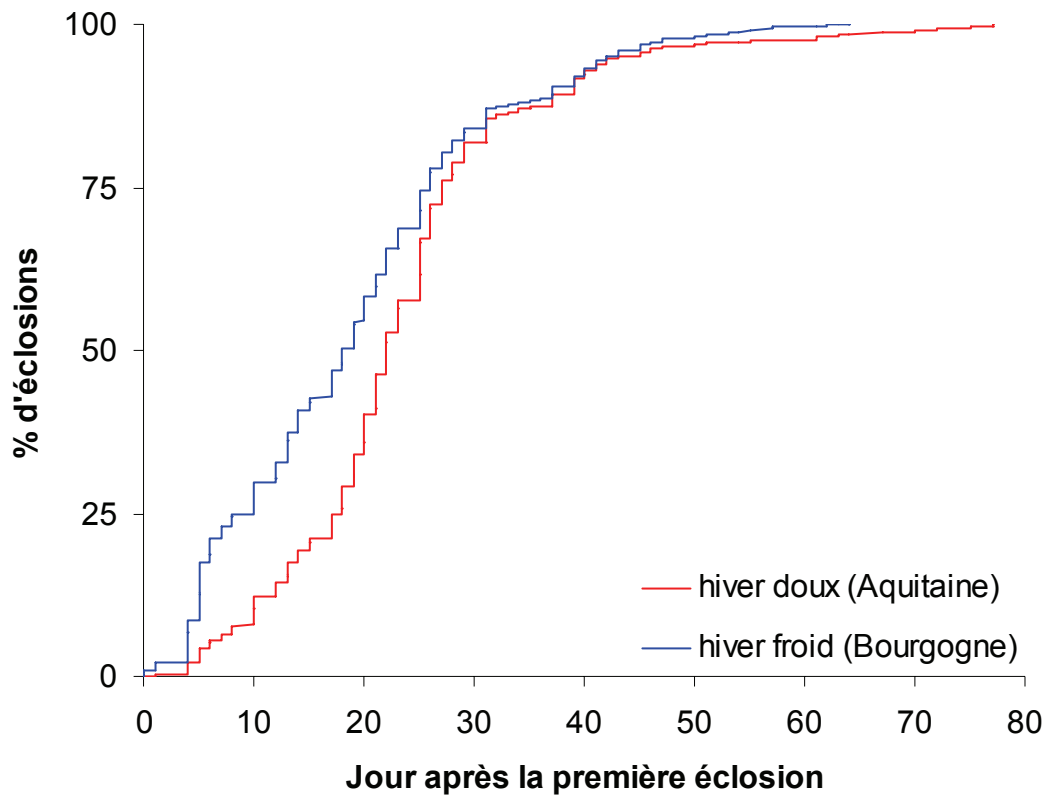
		Jours à 5 °C					
			20	28	36	49	63
0	Log-rank	$\chi^2 =$	3,45	2,61	4,36	2,08	20,90
		<b>P</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,01</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>
	Gehan-Wilcoxon	$\chi^2 =$	2,14	4,36	5,38	3,08	18,35
		<b>P</b>	<b>&lt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,01</b>	<b>&lt; 0,001</b>
20	Log-rank	$\chi^2 =$		4,19	11,76	4,14	27,59
		<b>P</b>		<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
	Gehan-Wilcoxon	$\chi^2 =$		5,53	10,79	4,04	26,14
		<b>P</b>		<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
28	Log-rank	$\chi^2 =$			1,73	0,16	13,76
		<b>P</b>			<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>
	Gehan-Wilcoxon	$\chi^2 =$			0,79	0,38	10,32
		<b>P</b>			<b>&gt; 0,05</b>	<b>&gt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>
36	Log-rank	$\chi^2 =$				2,18	14,18
		<b>P</b>				<b>&lt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>
	Gehan-Wilcoxon	$\chi^2 =$				0,86	9,81
		<b>P</b>				<b>&gt; 0,05</b>	<b>&lt; 0,001</b>
49	Log-rank	$\chi^2 =$					11,40
		<b>P</b>					<b>&lt; 0,001</b>
	Gehan-Wilcoxon	$\chi^2 =$					6,85
		<b>P</b>					<b>&lt; 0,001</b>

La première et la deuxième moitié de la dynamique d'éclosion ne sont pas affectées de la même manière par l'exposition au froid. Ainsi, plus les œufs ont été exposés longtemps à 5 °C et plus les 50 % d'éclosion sont atteints rapidement. La deuxième moitié des éclosions apparaît : 1) plus tardivement que le témoin (aucune exposition à 5 °C) après 20 jours d'exposition, 2) dans les mêmes temps pour 28, 36 et 49 jours, 3) plus tôt après 63 jours à 5 °C (Fig. 21). En résumé, une courte exposition à 5 °C suffit à obtenir des différences dans le début de la dynamique alors qu'il faut plus de temps pour affecter la deuxième partie de la courbe d'éclosion

### 3. Simulations hivernales

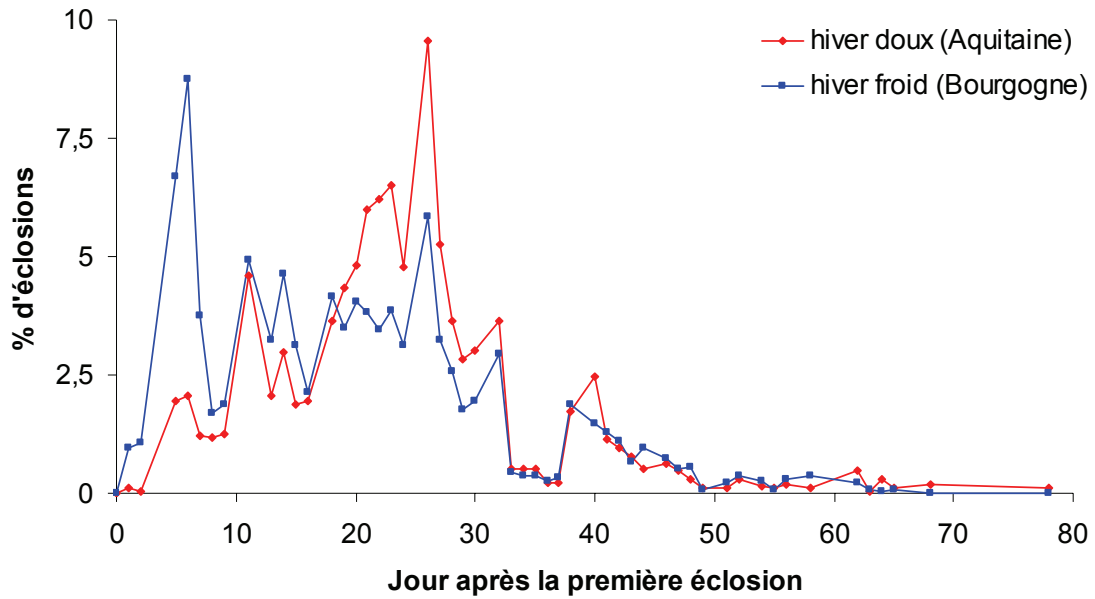
La cohorte d'œufs exposée à un hiver froid a éclo dans une période de temps plus courte que celle exposée à un hiver doux (Log rank:  $\chi^2 = 140$ ; Gehan-Wilcoxon:  $\chi^2 = 304$ ; les deux :  $P < 0,001$ ) (Fig. 22). Les 25, 50 et 75 % d'éclosion ont été atteints respectivement au bout de 8, 17 et 25 jours dans les conditions de Bourgogne, alors qu'après celles d'Aquitaine il a fallu

17, 22 et 27 jours. Le pic d'éclosion s'est produit 6 jours après le début des éclosions en ce qui concerne les conditions froides contre 26 jours après un hiver doux.



**Figure 22.** Pourcentages cumulés d'éclosions d'œufs de *S. titanus* en fonction du régime de températures hivernales.

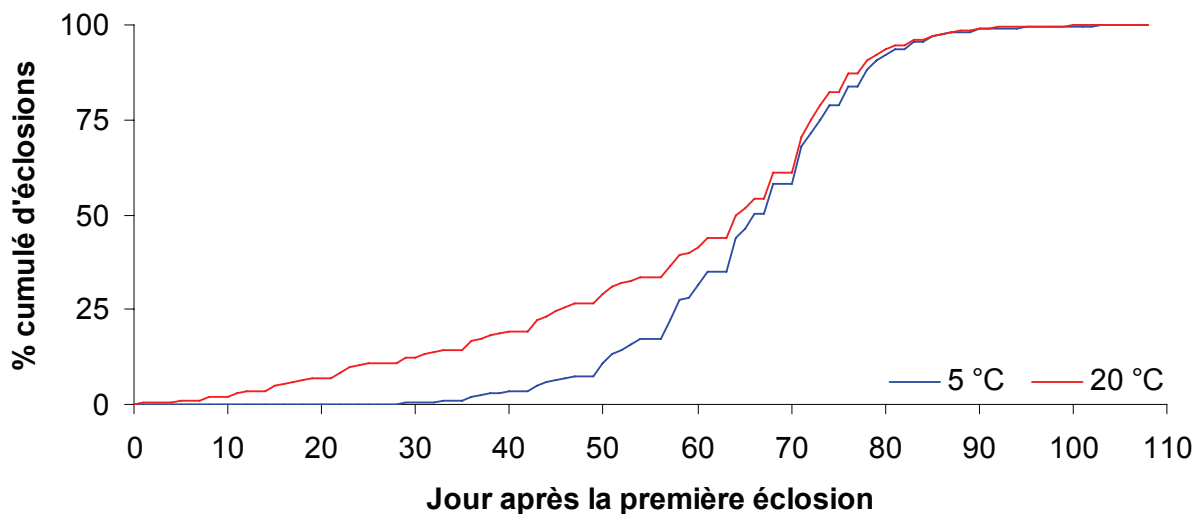
En dépit des différences entre les 2 courbes de Kaplan-Meier (Fig. 22), le test de corrélation de Spearman indique que les variations journalières du nombre d'éclosions sont semblables quelles que soient les températures auxquelles les œufs ont été exposés ( $N = 50$  ;  $r_s = 0,44$  ;  $P < 0,001$ ) (Fig. 23). Les augmentations ou diminutions relatives des effectifs de *S. titanus* éclos évoluent similairement dans les deux conditions. Seule la date du pic d'éclosion est décalée, ce qui constitue la principale source de différence entre les deux courbes. Après le 26<sup>ème</sup> jour d'éclosion, les dynamiques d'éclosions des 30 % d'œufs restants sont similaires. Etant donné que nous ne pouvons pas connaître la date de ponte, donc l'âge des œufs, il est difficile de savoir si nous observons une dynamique d'éclosion intrinsèque, le résultat d'une dynamique temporelle de ponte, ou une interaction entre les deux.



**Figure 23.** Fluctuations journalière du nombre d'éclosions d'œuf de *S. titanus*.

#### 4. Etude du besoin de froid comme caractère indispensable à la levée de la diapause

Contrairement à l'hypothèse communément admise sur la limitation de la propagation des populations de *S. titanus* au Sud qui voudrait que les hivers ne soient pas assez froids pour lever la diapause des œufs, l'absence de températures froides n'a pas empêché les œufs d'éclore (Fig. 24). En effet, les œufs ayant subi 3 mois à 5 ou 20 °C ont éclos dans les mêmes proportions (moyenne  $\pm \sigma$  ; 5 °C = 1309,2  $\pm$  160,5 et 20 °C = 1184  $\pm$  166,4).



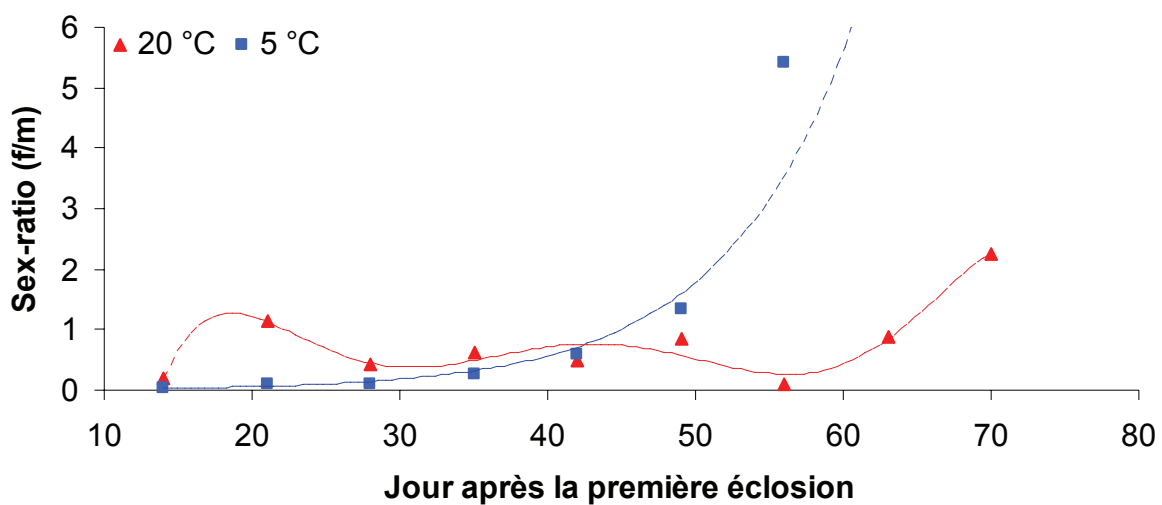
**Figure 24.** Pourcentages cumulés d'éclosions d'œufs de *S. titanus* soumis à 3 mois à 5 ou 20 °C.



Dans cette expérience, les températures hivernales ont également eu une influence sur les dynamiques d'éclosion puisque après 3 mois d'exposition à 20 °C, les éclosions ont commencé 4 semaines plus tôt et se sont étalées sur une plus longue période (107 jours) que les éclosions d'œufs exposés à 5 °C (80 jours) (Fig. 24 ; Log rank :  $\chi^2 = 99,4$  ; Gehan-Wilcoxon :  $\chi^2 = 255$  ; les deux :  $P < 0,001$ ).

En revanche, la présence ou l'absence de photopériode n'a pas eu d'influence sur les dynamiques d'éclosion.

### a) Effets des températures hivernales sur le sex-ratio

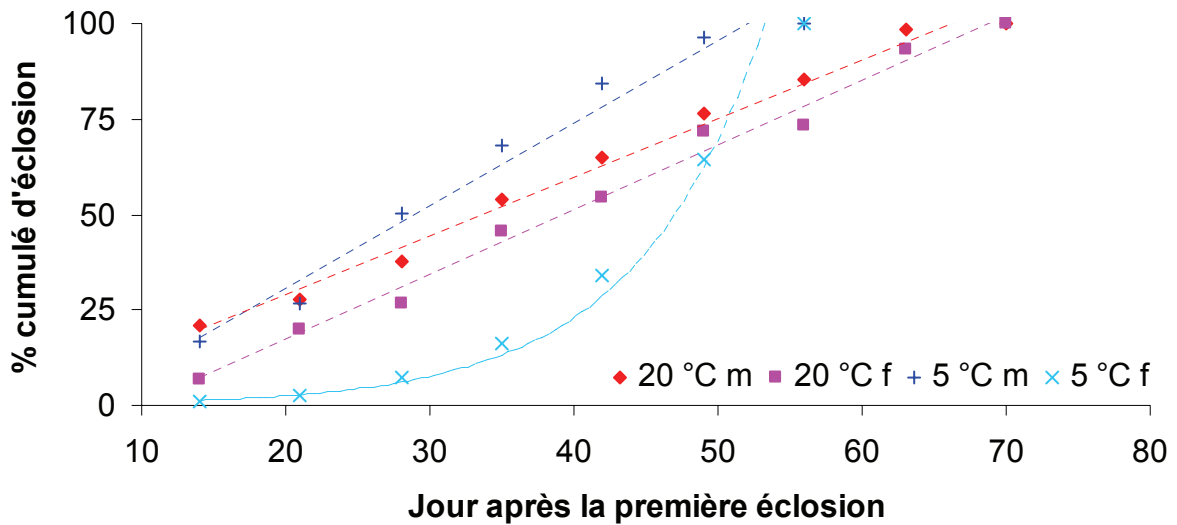


**Figure 25.** Dynamiques du sex-ratio des éclosions d'œufs soumis 3 mois à 5 ou 20 °C.

Les températures n'ont pas affecté le sex-ratio des éclosions (5 °C = 0,35 ; 20 °C = 0,36) mais elles ont agi sur le sex-ratio opérationnel (Fig. 25). Le sex-ratio, excepté pour la dernière observation, après une exposition à 20 °C, est toujours proche de 1 ou inférieur à cette valeur. Après 3 mois à 5 °C, le sex-ratio des éclosions augmente de manière exponentielle au cours du temps passant de 0,03 au début des éclosions à 5,4 à la fin de la période d'observation.

Les éclosions des mâles et des femelles après 3 mois d'exposition à 5 ou 20 °C sont affectés de manière différente. Les éclosions des mâles suivent un profil linéaire dans les deux conditions thermiques, alors que les dynamiques des femelles diffèrent fortement (Fig. 26). Cependant, la droite de régression modélisant l'évolution des éclosions des mâles issus d'œufs ayant reçu du froid au cours du temps a une pente plus forte que celle simulant l'éclosion des mâles n'ayant pas reçu de froid. Cela peut être dû au fait que les éclosions se sont produites sur un plus court intervalle de temps après une exposition au froid. En revanche, la dynamique d'éclosion des femelles est linéaire après l'exposition à une température constante de 20 °C

alors qu'elle est exponentielle après une exposition à 5 °C (Fig. 26). Les dynamiques d'éclosions sont donc similaires entre les deux sexes après une exposition à 20 °C, mais très différente après un passage des œufs à 5 °C (Fig. 26 & Tab. 12). Ceci a pour conséquence d'affecter l'évolution du sex-ratio au cours du temps. Ainsi, la protandrie (apparition des mâles avant les femelles) observée au terrain comme après un hiver simulé à 5 °C, avec une augmentation exponentielle du nombre de femelles par rapport à celui de mâles, laisse place à un sex-ratio généralement inférieur à 1 et relativement constant.



**Figure 26.** Pourcentages cumulés d'éclosion de mâles (m) et de femelles (f) provenant de populations d'œufs soumises 3 mois à 5 ou 20 °C.

**Tableau 12.** Caractéristiques des courbes de régressions des dynamiques d'éclosion de mâles et femelles après 3 mois à 5 ou 20 °C.

	Equation	R <sup>2</sup>	Profil	Comparisons de pente		
20 °C m	$y = 1,5356x - 1,6936$	0,9879	linéaire			
20 °C f	$y = 1,6905x - 16,385$	0,9895	linéaire	20°C m - 20°C f	2,83	> 0,05
5 °C m	$y = 2,1582x - 12,25$	0,9708	linéaire	20°C m - 5°C m	15,7	< 0,01
5 °C f	$y = 0,2725e^{0,1109x}$	0,9824	exponentiel	20°C f - 5°C m	8,72	< 0,05

Donc, les différences de dynamiques d'évolution du sex-ratio sont principalement dues à des dynamiques d'éclosion des mâles et des femelles différentes en fonction des traitements thermiques reçus (Fig. 26 & Tab. 12). Le sex-ratio opérationnel, c'est à dire le rapport entre le nombre de mâles et femelles disponibles pour la reproduction, varie donc en fonction des températures auxquelles sont exposés les œufs, le degré de protandrie résultant de la différence de dynamique d'éclosion des mâles et des femelles.

b) Effets des températures hivernales sur les traits d'histoire de vie

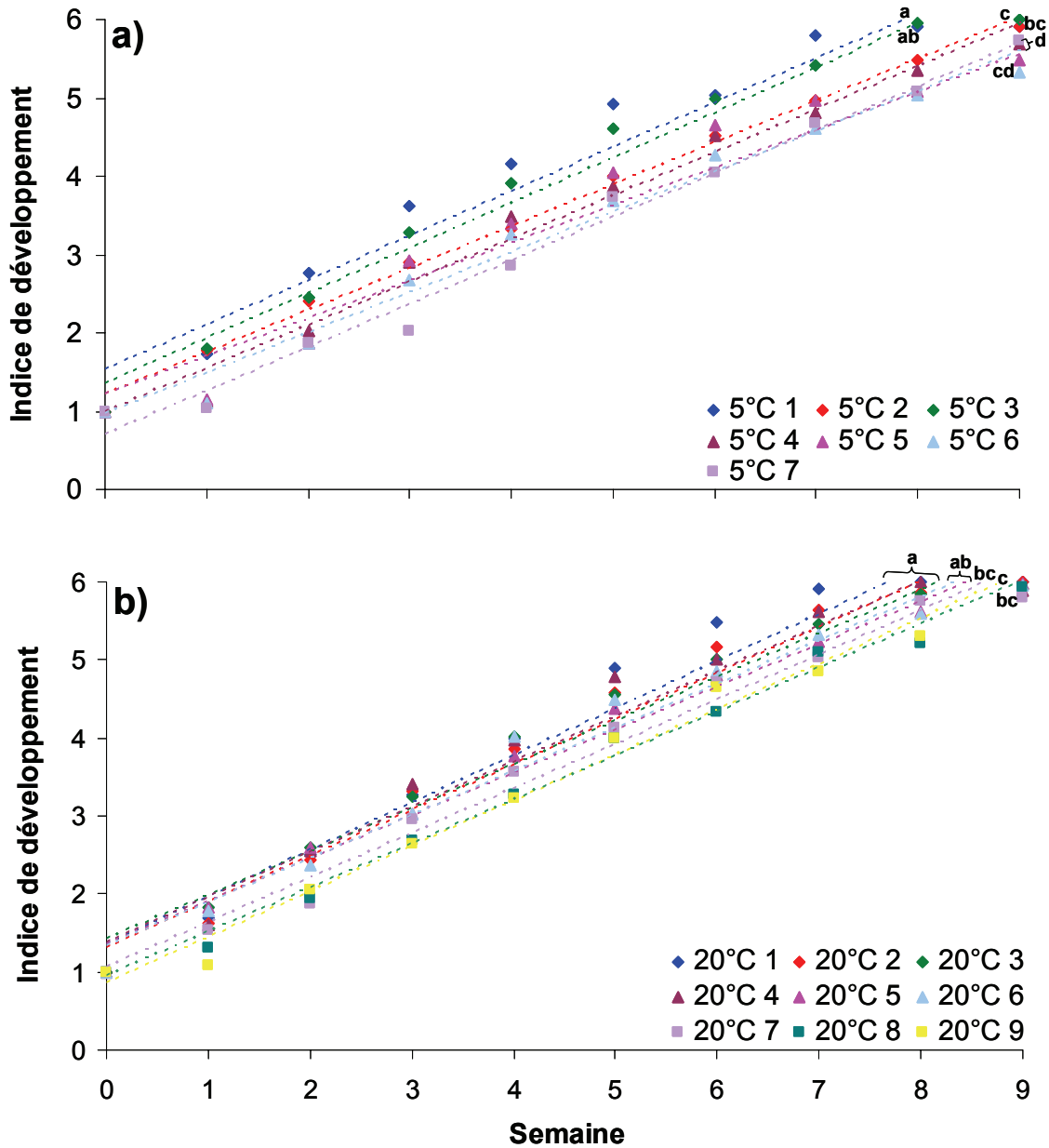
La température d'incubation des œufs a aussi une influence sur le développement post-éclosion. La température n'affecte pas la taille des larves à l'éclosion, mais son effet devient significatif à partir du troisième stade larvaire. Ainsi, les insectes ayant subi 3 mois à 20 °C sont systématiquement plus grands que ceux ayant passé 3 mois à 5 °C (Tab. 13).

**Tableau 13.** Traits d'histoire de vie de larves et adultes de *S. titanus* éclos d'œufs exposés à 3 mois à 5 °C ou 20 °C.

	5 °C		20 °C		test de Mann-Whitney	
	n	moyenne ± $\sigma$	n	moyenne ± $\sigma$	W	p
<b>taille (mm)</b>						
L1	476	1,63 ± 0,13	533	1,63 ± 0,15	127278	> 0,05
L2	367	2,12 ± 0,17	451	2,13 ± 0,22	93613	> 0,05
L3	418	2,73 ± 0,21	476	2,77 ± 0,25	113201,5	< 0,001
L4	470	3,49 ± 0,28	498	3,57 ± 0,31	1347,24	< 0,001
L5 males	190	4,67 ± 0,33	296	4,81 ± 0,31	83574	< 0,01
L5 females	375	4,31 ± 0,31	398	4,37 ± 0,37	34464,5	< 0,001
Ad males	62	5,28 ± 0,22	174	5,43 ± 0,21	58050	< 0,001
Ad females	232	4,52 ± 0,17	398	4,58 ± 0,23	7556,5	< 0,001
<b>masse (mg)</b>						
L4	470	1,02 ± 0,22	495	1,10 ± 0,27	137549	< 0,001
L5 males	190	2,58 ± 0,57	296	2,80 ± 0,58	88342,50	< 0,001
L5 females	374	2,03 ± 0,43	398	2,19 ± 0,60	34284	< 0,001
Ad males	62	3,99 ± 0,57	174	4,29 ± 0,57	59000,5	< 0,001
Ad females	241	2,79 ± 0,28	396	2,89 ± 0,25	7133,5	< 0,001
<b>Index de développement</b>						
semaine 1	360	1,39 ± 0,49	360	1,56 ± 0,51	60102	< 0,001
semaine 2	360	2,20 ± 0,55	360	2,29 ± 0,60	55737,5	< 0,01
semaine 3	352	2,90 ± 0,66	339	3,02 ± 0,57	52545	< 0,001
semaine 4	350	3,49 ± 0,63	333	3,75 ± 0,61	56274	< 0,001
semaine 5	347	4,10 ± 0,67	331	4,37 ± 0,60	56634	< 0,001
semaine 6	344	4,58 ± 0,58	323	4,77 ± 0,54	54593	< 0,001
semaine 7	338	5,02 ± 0,64	320	5,26 ± 0,51	53658	< 0,001
semaine 8	310	5,38 ± 0,55	303	5,65 ± 0,50	45355	< 0,001
semaine 9	251	5,71 ± 0,45	238	5,91 ± 0,29	24812	< 0,001

Comme pour la taille, l'absence de froid a pour conséquence des individus ayant une masse plus élevée. La vitesse de développement de la population est aussi affectée. Ainsi, à partir de la première semaine après l'éclosion, et jusqu'à la fin de l'expérimentation, l'indice de développement est toujours supérieur après 3 mois à 20 °C. Une vitesse de développement plus élevée est synonyme de passage d'un stade au suivant plus court. Le temps nécessaire

avant de devenir adulte et se reproduire est donc moins important, ce qui fait que les cicadelles pourraient être alors moins exposées aux ennemis naturels.



**Figure 27.** Evolution de l'indice de développement au cours du temps après 3 mois à 5 (a) ou 20 °C (b). Des lettres différentes indiquent des droites de régressions avec une ordonnée à l'origine différente au seuil de 5 %.

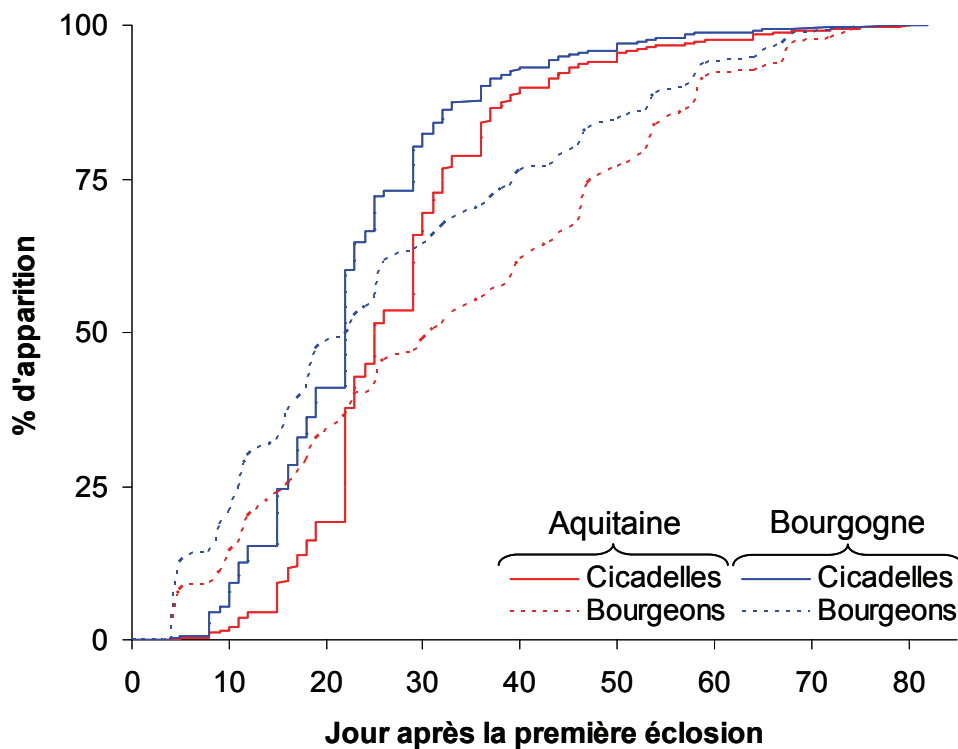
Les vitesses de développement des individus éclos à différentes dates peuvent être représentées par leur régression linéaire (pour toutes :  $r^2 > 0,94$  ;  $p < 0,001$  ; Fig. 27.). Il n'y a pas de différence entre les pentes, que ce soit pour l'exposition à 5 (pour toutes :  $F < 2,94$  ;  $p > 0,05$ ) ou à 20 °C (pour toutes :  $F < 1,05$  ;  $p > 0,05$ ) mais les ordonnées à l'origine diffèrent (Fig. 27). La proportion de mâles plus importante au début de la période d'éclosion peut expliquer ces différences. Les mâles nécessitant une période de développement avant de

devenir adulte moins grande que pour les femelles, les valeurs intermédiaires de l'indice de développement sont plus élevées pour les populations d'individus éclos en premier, ce qui a pour conséquence des ordonnées à l'origine des droites de régression plus élevées.

## 5. Importance des températures hivernales sur la synchronisation de *S. titanus* avec la vigne

L'expérience de synchronisation de *S. titanus* avec la vigne utilisant des ceps en pots n'a pas donné de résultats car aucune éclosion de cicadelle n'a été observée. Les résultats présentés dans ce chapitre ne concerneront donc que l'expérimentation de synchronisation menée sur des bois de vigne isolés.

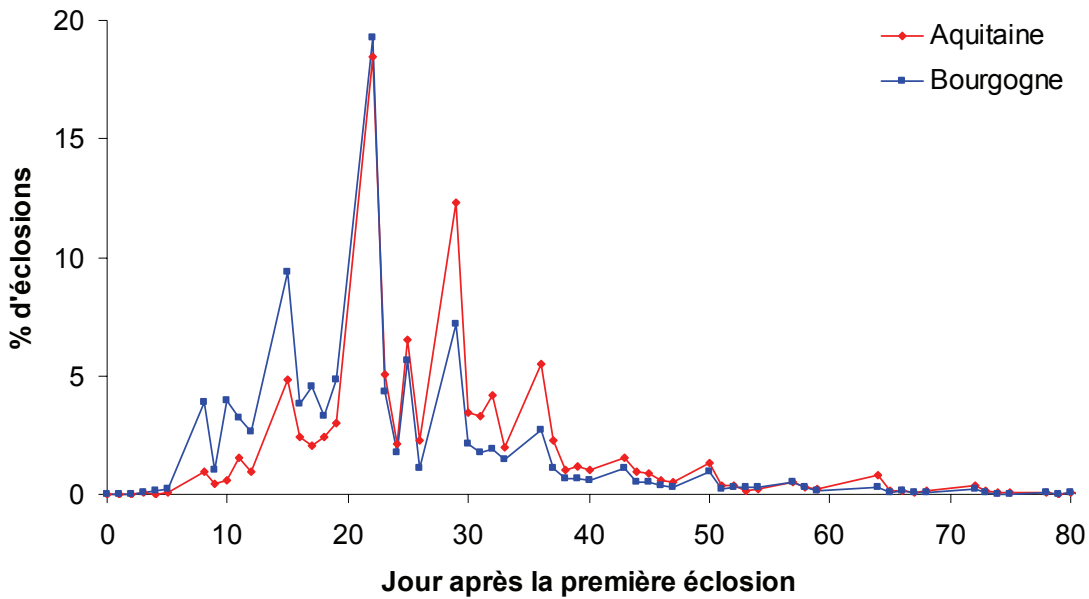
### a) Synchronisation de *S. titanus* avec sa plante hôte



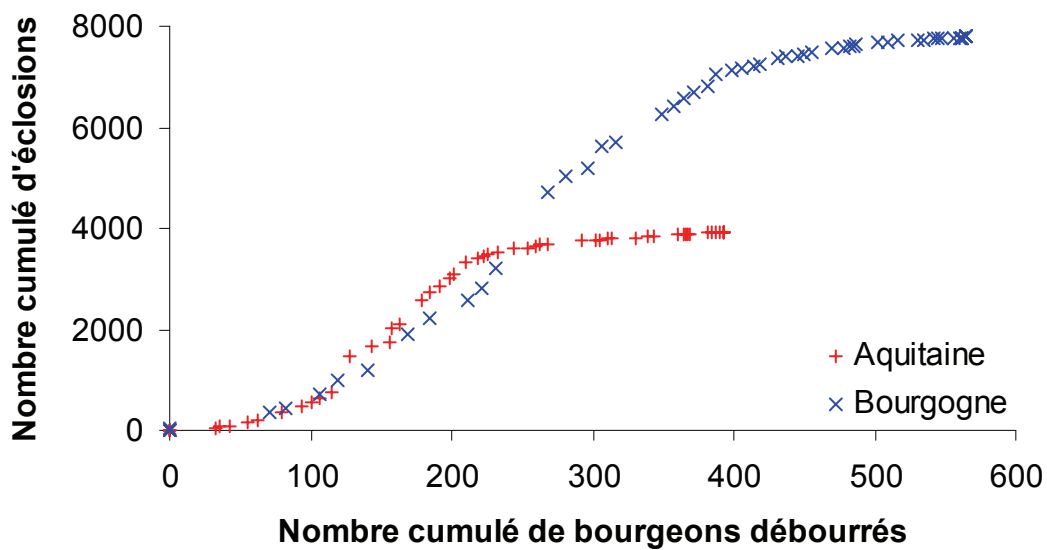
**Figure 28.** Pourcentages cumulés d'éclosions d'œuf de *S. titanus* et de débourrement de bois provenant d'Aquitaine et de Bourgogne.

L'ensemble des œufs provenant de Bourgogne, donc exposés à l'hiver le plus froid, ont éclos durant une période plus courte que ceux provenant d'Aquitaine (log-rank :  $\chi^2=371$  ; Gehan–Wilcoxon :  $\chi^2=636$  ;  $p < 0,001$  ; Fig. 28.). Les 25, 50 et 75 % d'éclosions de la

population d'œufs de Bourgogne ont été atteints respectivement après 15, 20 et 26 jours, alors que pour celle d'Aquitaine, 20, 25 et 31 jours ont été nécessaires.



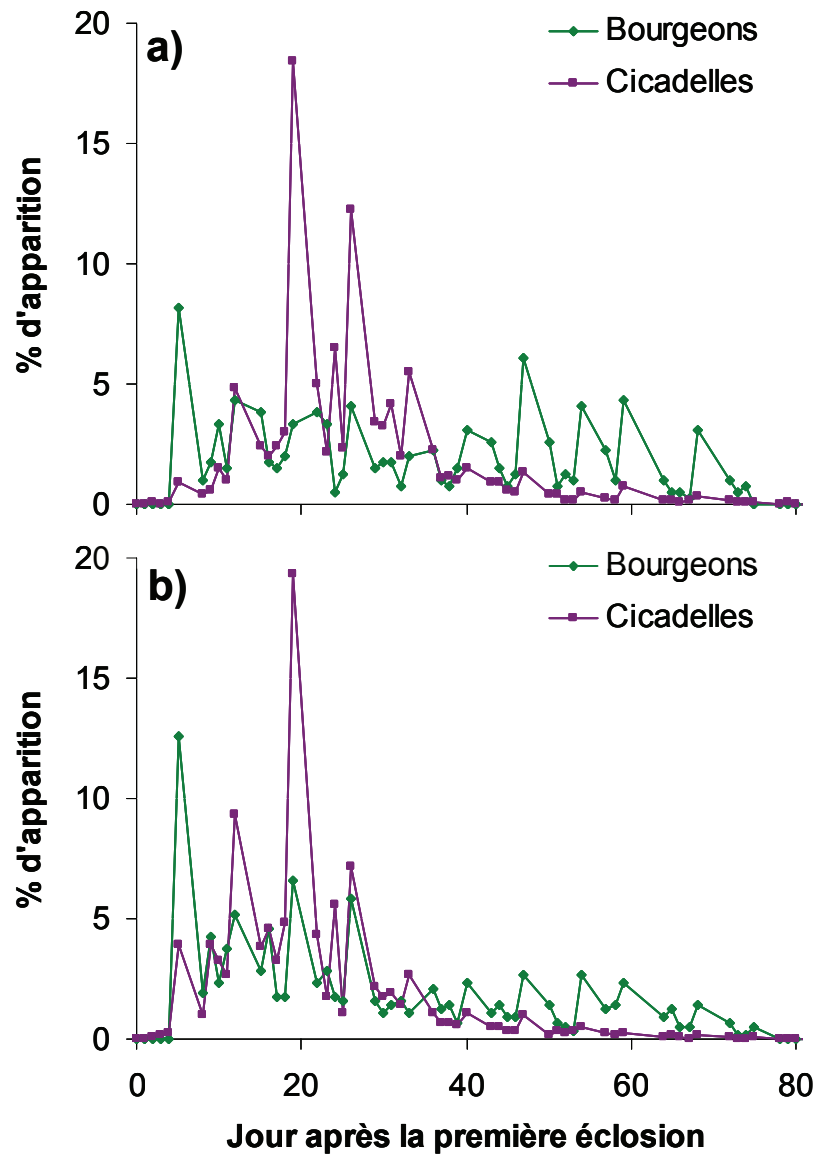
**Figure 29.** Fluctuations journalières du nombre d'éclosions d'œufs de *S. titanus* provenant d'Aquitaine et de Bourgogne.



**Figure 30.** Relation entre nombre de cicadelles écloses avec le nombre de bourgeons débouffés au cours du temps.

Le pic majeur d'éclosion a été atteint 22 jours après le commencement des éclosions, aussi bien pour les œufs exposés à un hiver froid que ceux exposés à un hiver doux. Malgré la différence entre les deux courbes de Kaplan–Meier (Fig. 28), la variation journalière des éclosions est significativement corrélée ( $r_s = 0,82$  ;  $p < 0,001$  ; Fig. 29). La proportion

d'augmentation ou de diminution du nombre d'éclosion a donc évolué de façon similaire dans les deux conditions. La différence entre les deux dynamiques d'éclosion est basée sur la différence des dates d'apparition de l'ensemble des pics, à l'exception du pic majeur d'éclosion. En effet, à l'apparition du pic d'éclosion, seulement 25 % des individus de la population d'Aquitaine ont éclos, contre 50 % pour celle de Bourgogne.



**Figure 31.** Dynamiques journalières d'éclosions des œufs et de débourement des bourgeons des populations d'Aquitaine (a) et de Bourgogne (b).

Le nombre d'éclosions de cicadelles et le nombre de bourgeons débourents sont significativement corrélés quelle que soit la provenance des œufs (Bourgogne :  $r_s = 0,99$  ;  $p < 0,001$  ; Aquitaine :  $r_s = 0,99$  ;  $p < 0,001$  ; Fig. 30).



Dans les 2 conditions, le pic de sortie des bourgeons est atteint au bout de 8 jours, alors que le pic d'éclosion des cicadelles est atteint en 22 jours (Fig. 31). Le degré de synchronisation entre la disponibilité en nourriture et les éclosions est donc le même pour les deux régions puisque c'est à partir de l'apparition du pic d'éclosion que la dynamique d'éclosion dépasse la dynamique de débourrement (Fig. 31).

b) Importance de l'âge de la ressource sur la fitness de *S.*

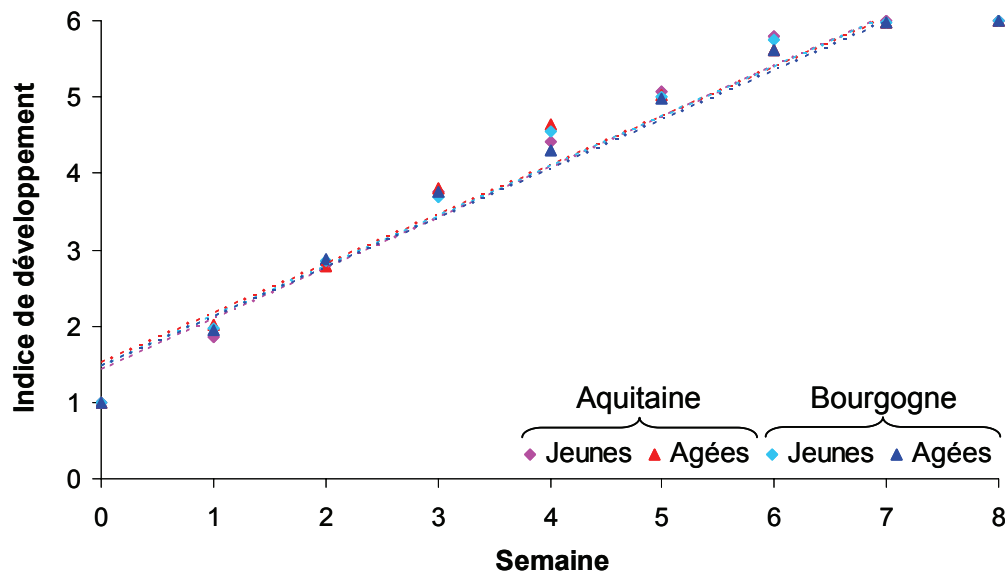
*titanus*

**Tableau 14.** Traits d'histoire de vie de *S. titanus* alimentés sur des boutures jeunes et âgées.

	Jeunes boutures		Boutures âgées		test de Mann-Whitney		
	n	moyenne $\pm \sigma$	n	moyenne $\pm \sigma$	W	p	
	<b>taille (mm)</b>						
<b>Aquitaine</b>	L1	46	1,58 $\pm$ 0,10	40	1,59 $\pm$ 0,18	850,5	> 0,05
	L2	43	2,12 $\pm$ 0,26	49	2,14 $\pm$ 0,49	822,5	> 0,05
	L3	40	2,65 $\pm$ 0,17	40	2,31 $\pm$ 0,63	1295,5	< <b>0,001</b>
	L4	55	3,48 $\pm$ 0,45	45	3,51 $\pm$ 1,09	1275	> 0,05
	L5 mâles	11	4,66 $\pm$ 0,61	14	4,88 $\pm$ 0,32	61,5	> 0,05
	L5 femelles	49	4,32 $\pm$ 0,25	65	4,44 $\pm$ 0,31	1166	<b>0,033</b>
	Ad mâles	13	5,08 $\pm$ 1,02	19	5,49 $\pm$ 0,29	92	> 0,05
	Ad femelles	103	4,51 $\pm$ 0,49	88	4,62 $\pm$ 0,19	3757	<b>0,041</b>
<b>Bourgogne</b>	L1	41	1,59 $\pm$ 0,09	42	1,55 $\pm$ 0,10	1031,5	> 0,05
	L2	45	2,00 $\pm$ 0,13	43	2,08 $\pm$ 0,13	681	<b>0,016</b>
	L3	47	2,77 $\pm$ 0,15	46	2,78 $\pm$ 0,41	1225,5	> 0,05
	L4	45	3,51 $\pm$ 0,29	57	3,59 $\pm$ 0,71	1193	> 0,05
	L5 mâles	65	4,54 $\pm$ 0,92	52	4,42 $\pm$ 0,29	1678	> 0,05
	L5 femelles	6	4,85 $\pm$ 0,17	16	4,72 $\pm$ 0,33	57	> 0,05
	Ad mâles	98	4,67 $\pm$ 0,21	71	4,58 $\pm$ 0,16	4348	<b>0,005</b>
	Ad femelles	12	5,52 $\pm$ 0,35	18	5,39 $\pm$ 0,29	130,5	> 0,05
	<b>masse (mg)</b>						
<b>Aquitaine</b>	L4	55	1,03 $\pm$ 0,26	45	0,97 $\pm$ 0,89	1382	> 0,05
	L5 mâles	11	2,66 $\pm$ 0,47	14	2,77 $\pm$ 0,57	67	> 0,05
	L5 femelles	49	2,01 $\pm$ 0,34	65	2,07 $\pm$ 0,41	1351,50	> 0,05
	Ad mâles	13	4,52 $\pm$ 0,61	19	4,51 $\pm$ 0,63	128,5	> 0,05
	Ad femelles	103	2,90 $\pm$ 0,38	88	2,85 $\pm$ 0,23	4916,5	> 0,05
<b>Bourgogne</b>	L4	45	0,98 $\pm$ 0,27	57	0,98 $\pm$ 0,28	1271,5	> 0,05
	L5 mâles	65	2,07 $\pm$ 0,43	52	2,10 $\pm$ 0,45	1556,5	> 0,05
	L5 femelles	6	2,80 $\pm$ 0,37	16	2,67 $\pm$ 0,52	54,00	> 0,05
	Ad mâles	98	2,84 $\pm$ 0,43	71	2,81 $\pm$ 0,27	3306	> 0,05
	Ad femelles	12	4,45 $\pm$ 0,94	18	4,28 $\pm$ 0,85	110	> 0,05

Les masses des individus alimentés sur jeunes boutures et sur boutures âgées ne sont pas différentes quelle que soit l'origine des cicadelles (Tab. 14). En revanche, l'alimentation a un effet sur la taille, particulièrement chez les mâles (Tab. 14). En effet, les mâles adultes

alimentés sur jeunes boutures sont plus grands que les individus alimentés sur boutures âgées dans le cas d'individus originaires de Bourgogne. A l'inverse, les mâles provenant d'Aquitaine alimentés sur boutures âgées sont plus grands que ceux sur jeunes boutures (Tab. 14). Dans notre expérience, l'âge de la ressource a des effets inverses en fonction de l'origine des cicadelles.

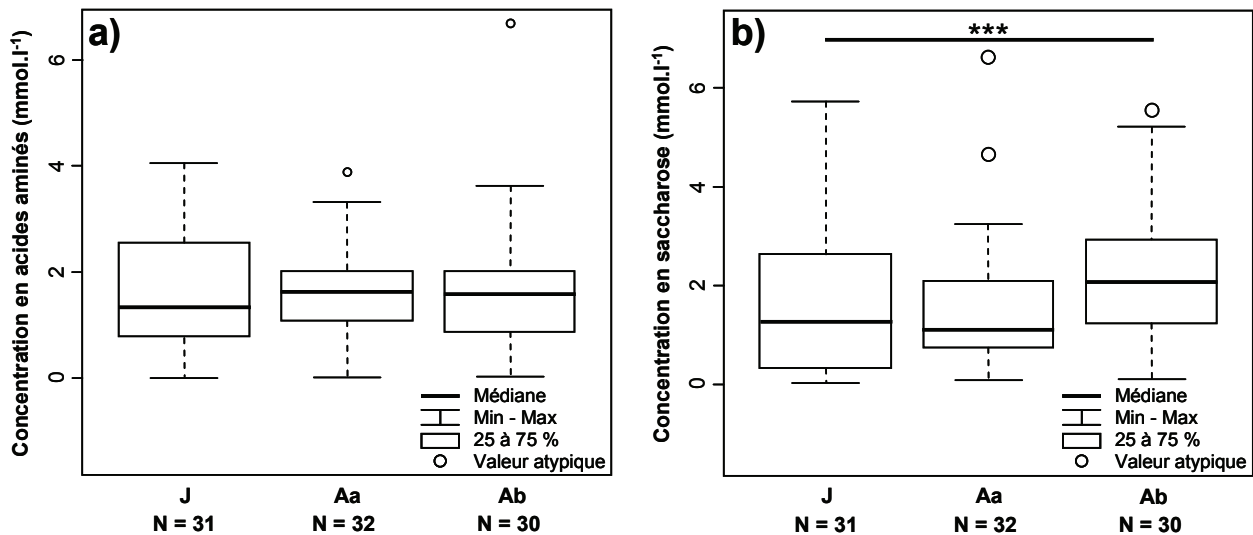


**Figure 32.** Evolution de l'indice de développement au cours du temps en fonction de leur alimentation sur boutures "Jeunes" ou "Agées".

La vitesse de développement des individus n'est pas affectée par l'âge des boutures sur lesquelles se sont alimentées les cicadelles (ANCOVA ; Moroges :  $F_{1,16} = 0,046$  ;  $p > 0,05$  ; Castillon :  $F_{1,16} = 0,010$  ;  $p > 0,05$  ; Fig. 32).

### c) Variation de la qualité de phloème avec l'âge de la feuille

La concentration du phloème en acides aminés est semblable quelle que soit l'âge de la feuille ( $\chi^2 = 0,149$  ;  $p > 0,05$  ; Fig. 33a).

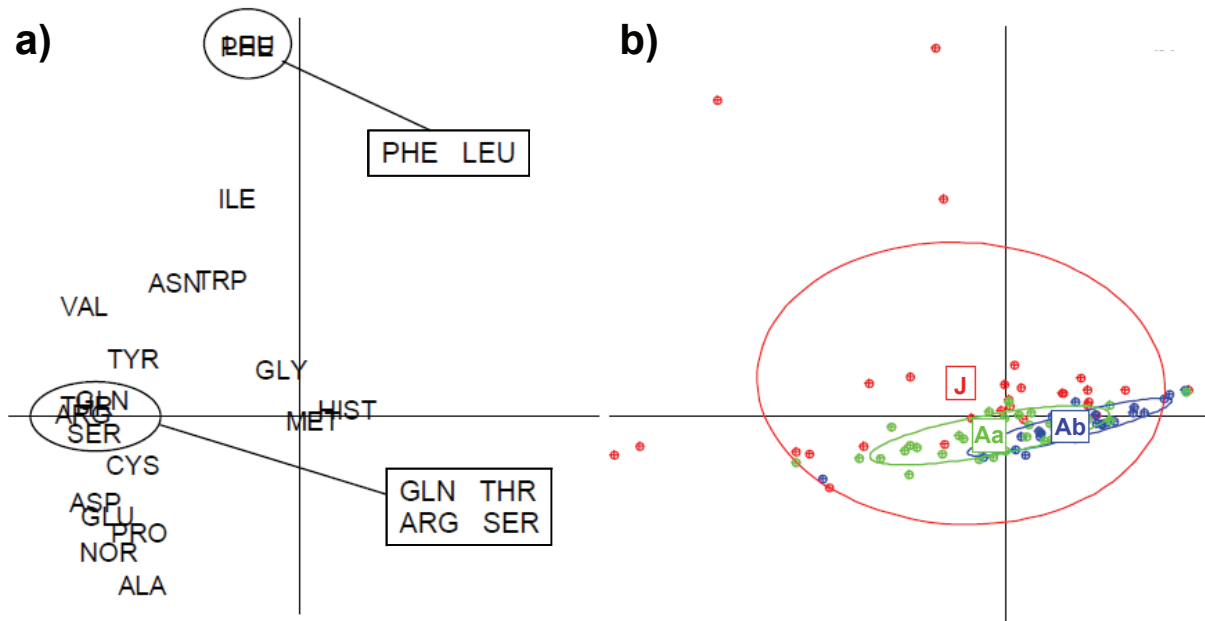


**Figure 33.** Concentration totale en acides aminés (a) et en saccharose (b) de feuilles de différents âges. Aa = feuilles apicales de boutures âgées ; Ab = feuilles basales de boutures âgées; J = feuilles de boutures jeunes. \*\*\* :  $p < 0,001$ .

Si la quantité de matière azotée disponible ne varie pas avec l'âge de la feuille, sa qualité est influencée puisque la composition du phloème en acides aminés varie significativement avec l'âge de la ressource (NPMANOVA ;  $F_{2,92} = 5,17$  ;  $p < 0,001$ ). Ainsi, les jeunes feuilles diffèrent des feuilles matures (NPMANOVA ;  $F_{1,60} = 6,57$  ;  $p < 0,05$ ) et mi-matures ( $F_{1,62} = 2,92$  ;  $p < 0,001$ ) et les deux dernières diffèrent entre elles (NPMANOVA ;  $F_{1,61} = 5,99$  ;  $p < 0,001$ ). Afin d'explorer les variations de composition en acides aminés du phloème, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée afin de comparer les feuilles en fonctions de leur âge. Les deux premières composantes (PC1 et PC2) expliquent 55,62 % de la variation totale des données (Fig. 34a). L'assignement des acides aminés, placés sur chaque axe en fonction de leur score, révèle que PC1 tend à séparer les acides aminés essentiels des non essentiels (Fig. 34a). Ces deux axes donnent une bonne mais imparfaite séparation des feuilles matures, mi-matures et jeunes (Fig. 34b). Malgré tout, une graduation de la composition en acides aminés durant le développement apparaît avec certains acides aminés essentiels présents dans les jeunes feuilles (isoleucine, leucine et phénylalanine) qui disparaissent au cours du développement au profit des acides aminés non essentiels.

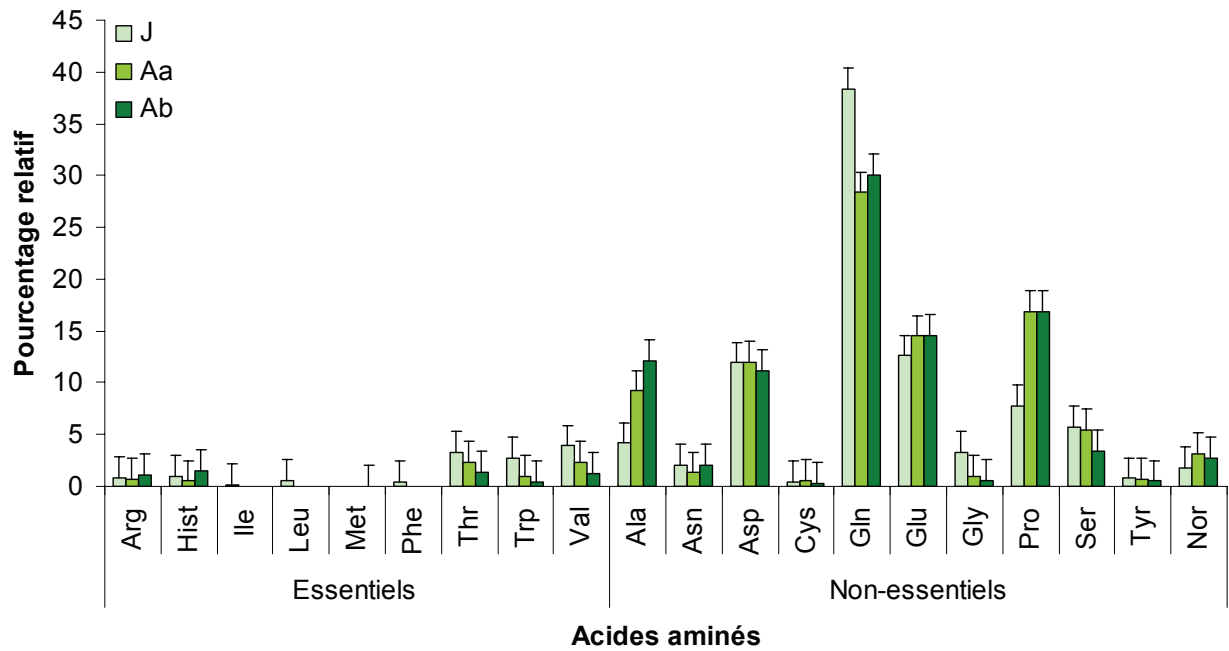
La glutamine est l'acide aminé majoritaire de toutes les catégories de feuilles, même si elle est présente en plus grande proportion dans les jeunes feuilles. Elle représente quasiment 40 % des acides aminés présents chez les jeunes boutures contre 30 % dans les feuilles des boutures âgées (apicales et basales). La proportion d'acides aminés essentiels est maximale dans le phloème des feuilles de jeunes boutures et décroît avec l'âge des feuilles. Elle est ainsi

de 12,95 % dans les jeunes boutures, 6,88 % dans les feuilles apicales des boutures âgées et de 5,58 % dans les feuilles basales. Ainsi, les présences d'isoleucine, de leucine et de phénylalanine ne sont même pas détectées dans le phloème des boutures âgées (Fig. 35).

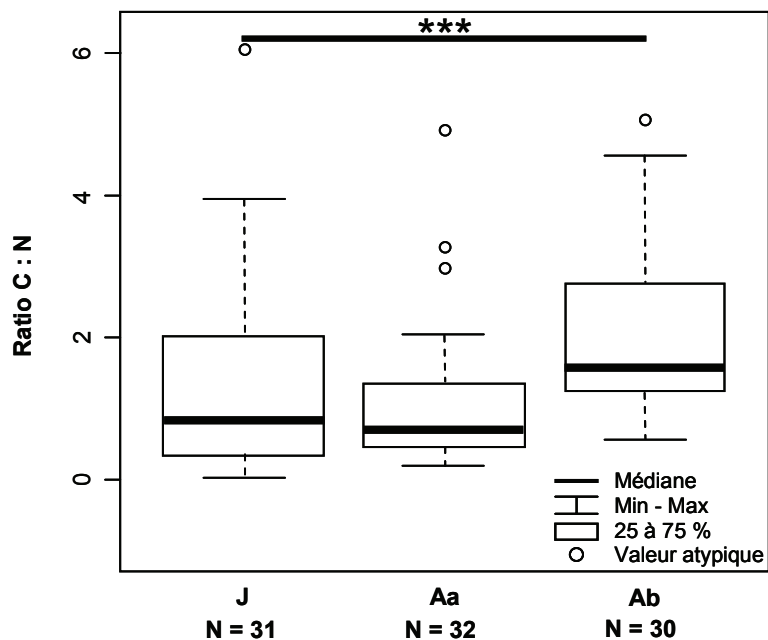


**Figure 34.** Analyse en composantes principales des acides aminés présents dans les exsudats de phloème prélevés sur des boutures de stades phénologiques différents. a) Assignation des acides aminés sur PC1 et PC2 expliquant respectivement 41,96 % et 13,66 % de la variance des données. b) Placement des individus en fonction de PC1 et PC2. Aa = feuilles apicales de boutures âgées ; Ab = feuilles basales de boutures âgées; J = feuilles de boutures jeunes. Les acides aminés regroupés en une même zone ont été discernés dans les rectangles

Le phloème des feuilles basales des boutures âgées a une plus grande concentration en saccharose que celui des autres catégories de feuilles testées ( $\chi^2 = 7,71$  ;  $p < 0,01$  ; Fig. 33b). Ceci a comme conséquence un ratio C:N (saccharose:acides aminés) plus élevé dans la première catégorie de feuilles ( $\chi^2 = 15,39$  ;  $p < 0,001$  ; Fig. 36).



**Figure 35.** Composition en acides aminés (pourcentage moyen  $\pm$  erreur type) des feuilles en fonction de leur âge classés selon leur importance dans la synthèse protéique des insectes. Aa = feuilles apicales de boutures âgées ; Ab = feuilles basales de boutures âgées; J = feuilles de boutures jeunes.



**Figure 36.** Comparaison du ratio C:N (saccharose:acides aminés) de feuilles de différents âges. Aa = feuilles apicales de boutures âgées ; Ab = feuilles basales de boutures âgées; J = feuilles de boutures jeunes. \*\*\* :  $p < 0,001$ .

## D. Discussion

### 1. Le froid n'est pas indispensable à la sortie de diapause mais a un rôle important sur la dynamique d'éclosion.

La diapause est un état dynamique pendant lequel les conditions physiologiques changent et pour lesquelles la photopériode et les températures sont les facteurs environnementaux majeurs de régulation (Tauber & Tauber 1976; Denlinger 2002; Danks 2006). Les résultats obtenus montrent que la photopériode n'influence pas la sortie de diapause, ce qui est cohérent avec le positionnement des œufs sous l'écorce, donc non exposés à la lumière. Ces résultats contredisent ce qui était communément admis sur les besoins en froid pour la levée de la diapause des œufs de *S. titanus* (Caudwell & Larrue 1979; Steffek *et al.* 2007) puisque des températures froides ne sont pas indispensables pour déclencher l'éclosion. Si des températures hivernales froides ne sont pas un pré-requis à la reprise du développement embryonnaire de *S. titanus*, leur action sur les œufs a toutefois des conséquences importantes sur la dynamique d'éclosion ainsi que sur la fitness des larves et adultes.

Ainsi, comme pour de nombreux insectes à diapause hivernale vivant dans des zones tempérées (Collier & Finch 1983; Wipking 1995; Bosch & Kemp 2004), le délai nécessaire avant la première éclosion d'œufs de *S. titanus*, à partir du moment où les températures deviennent favorables, diminue avec le temps d'exposition des œufs à des températures froides. En effet, la quantité de froid reçue par les œufs est négativement corrélée au temps nécessaire à une population d'œufs pour commencer à éclore et atteindre les 50 % d'éclosions. Cependant, la quantité de froid à laquelle ont été exposés les œufs n'affecte pas la durée de la période d'éclosion. Les différences entre premières et dernières éclosions ne dépendent donc pas uniquement des facteurs environnementaux. Quelle que soit la quantité de froid reçue, l'étalement des éclosions semble constant, sauf dans le cas extrême de non exposition des œufs au froid où la période d'éclosion est plus longue. On observe également des dynamiques journalières d'éclosion similaires pour les populations d'œufs exposées à un hiver froid ou doux. Les dynamiques d'éclosion de *S. titanus* présentent un pic majeur et un ensemble d'autres pics adjacents de taille variable. Ce pic majoritaire ainsi que les autres pics principaux adjacents expliquent la plus ou moins grande précocité des éclosions. Il existe donc une dynamique d'éclosion avec des individus plus ou moins précoces, et ce sont les températures hivernales qui sont responsables de la proportion d'éclosions dans chaque catégorie (précoce et tardive).

La précocité de la première éclosion augmente avec l'exposition au froid, mais dans le même temps l'absence totale de froid accentue encore plus le début des éclosions. Pour expliquer ces résultats en apparence contradictoires, on peut émettre l'hypothèse suivante :

pendant la phase de maintenance de la diapause (Kostal 2006), les œufs de *S. titanus* ne sont pas réceptifs aux températures et celles-ci n'ont pas d'effet sur le développement. Puis, au cours de la quiescence qui suit la diapause (Kostal 2006), le développement des embryons reprend avec des températures favorables (élevées) auxquelles les femelles seraient plus sensibles que les mâles. Ainsi, les températures défavorables (froides) retarderaient davantage les éclosions des femelles que celles des mâles, ce qui expliquerait les différences de sensibilité des deux sexes aux températures hivernales.

En se basant sur Hopper (1999), on peut émettre deux hypothèses pouvant expliquer l'existence d'une dynamique journalière d'éclosion constante, malgré des conditions thermiques variables et un déplacement du pic d'éclosion face à ces dernières. Soit il existe deux génotypes de femelles coexistant, un qui pondrait des œufs sensibles aux conditions climatiques et un autre qui produirait des œufs insensibles ; soit il n'existe qu'un génotype de femelles produisant différents phénotypes d'œufs en ce qui concerne leur sensibilité aux températures hivernales. Pour ces deux hypothèses, la durée de la période d'éclosion et la dynamique journalière d'éclosion relativement constante seraient dues à la sous-population d'œufs insensibles aux températures, tandis que l'apparition du pic majoritaire correspondrait à la sous population d'œufs sensible aux températures. *Scaphoideus titanus*, comme toute espèce récemment introduite, possède une faible variabilité génétique en Europe (Bertin *et al.* 2007; Papura *et al.* 2007; 2009). Celle-ci n'a pas pu être compensée par une évolution rapide. Cette évolution a probablement été ralentie par la seule génération annuelle de cet insecte et un taux de multiplication assez faible. **L'existence de deux grandes catégories de phénotype résultant d'un même génotype semble donc plus probable.** En effet, on sait qu'au sein d'une population, des individus d'une même génération et avec un génotype similaire peuvent montrer une phénologie dissemblable. Biron *et al.* (1998) ont ainsi démontré que chez la mouche du chou *Delia radicum* (Diptera : Anthomyiidae) il existe un phénotype précoce et un phénotype tardif induisant une distribution bimodale asymétrique des émergences à la sortie de diapause. Cette variance phénotypique peut être interprétée comme une stratégie d'étalement du risque ("bet-hedging"). Le "bet-hedging" favorise une faible variance de la fitness populationnelle permettant d'augmenter le taux reproducteur moyen (Rajon *et al.* 2009). Cette stratégie permet d'éviter la survenue simultanée de tous les individus dans un environnement inapproprié à leur survie, et donc les risques d'extinctions locales causés par l'apparition d'évènements climatiques exceptionnels (Rajon *et al.* 2009; Menu & Desouhant 2011).



## 2. Le froid est un signal utilisé par la plante et l'insecte qui permet une bonne synchronisation du débourrement des bourgeons et des éclosions

Comme la plupart des espèces ligneuses caduques de zones tempérées, la vigne subit une dormance végétative qui lui permet de survivre aux conditions hivernales. La dormance des bourgeons est contrôlée génétiquement, naturellement induite par la photopériode et les températures, et généralement levée après exposition à des températures froides (Horvath *et al.* 2003). Le temps nécessaire pour initier le débourrement, ainsi que la durée de son étalement diminuent avec la durée de l'exposition de la vigne au froid, alors que le nombre de bourgeons débouillant par cep augmente (Kliwer & Soleimani 1972). Les températures hivernales sont donc un signal inducteur de la reprise du développement de la vigne. Il en est de même pour la reprise du développement de *S. titanus*. La cicadelle et sa plante hôte sont donc apparemment sensibles aux mêmes paramètres climatiques, mais pas de la même manière. Cependant, les réponses différentes de la vigne et de *S. titanus* aux températures permettent à l'insecte de se synchroniser avec sa ressource. En effet, les éclosions de *S. titanus* sont corrélées avec le débourrement des bourgeons de *V. vinifera*, que ce soit après une exposition à un hiver doux ou à un hiver froid. Cependant, des observations en vignoble sur plusieurs années et avec des conditions hivernales plus contrastées que dans notre étude ont montré que la synchronisation entre les éclosions et la phénologie de la plante est meilleure dans des vignobles à conditions hivernales froides (Bourgogne) que douces (PACA) (Sentenac, com. pers.). Les expériences réalisées dans ce mémoire n'ont pas permis de mettre en évidence un effet du cépage sur la dynamique d'éclosion et la synchronisation des éclosions avec la plante hôte.

Chez les espèces phytophages univoltines, la synchronisation des larves avec l'apparition des organes cibles de l'hôte réduit la période de jeûne, minimisant ainsi la mortalité larvaire. Pour une survie larvaire et une fitness optimales (Rossi & Strong 1991), il est important que l'éclosion des œufs de *S. titanus* soit synchronisée avec le débourrement des bourgeons de la vigne, c'est à dire lorsque les jeunes feuilles présentent les teneurs en azote les plus élevées (Mooney & Gulmon 1982). Ainsi, les pucerons *Drepanosiphum platanoidis* (Homoptera: Callaphididae) qui éclosent en même temps que l'apparition des bourgeons de leur plante hôte *Acer pseudoplatanus* (Sapindales: Aceraceae) ont un poids à l'âge adulte deux fois plus important et une descendance qui se développe plus rapidement que les pucerons qui éclosent après le débourrement (Dixon 1976).

L'augmentation actuelle des températures moyennes induit une précocité du débourrement de la vigne (Duchêne & Schneider 2005). Les résultats présentés dans cette thèse montrent qu'une plus faible quantité de froid durant l'hiver induit un début des éclosions

plus tardif. Par conséquent, une asynchronie entre l'éclosion des œufs et le débourrement des bourgeons peut être associée à des températures hivernales plus élevées et avoir de sérieuses conséquences sur la survie larvaire (Watt & McFarlane 1991). A titre d'exemple, la modélisation des effets du réchauffement climatique sur la synchronisation de *Operophtera brumata* (Lepidoptera: Geometridae) avec sa plante hôte *Picea sitchensis* (Pinales: Pinaceae) en Ecosse montre un décalage de  $20 \pm 2,5$  jours entre les deux phénomènes pour une augmentation de la température ambiante de 2 °C (Dewar & Watt 1992). Avec le réchauffement climatique et les hivers moins froids annoncés (IPCC 2007), on peut s'attendre à une augmentation du temps requis avant l'éclosion des œufs ainsi qu'à un pic d'éclosion plus tardif, alors que le débourrement sera plus précoce. Cela pourrait résulter en une désynchronisation entre la vigne et la cicadelle. La majorité des larves devrait alors apparaître sur des feuilles âgées ayant une moins bonne qualité nutritionnelle (Mooney & Gulmon 1982), ce qui devrait conduire à une diminution générale de la fitness des populations de *S. titanus*.

### **3. La qualité de la ressource varie au cours du temps mais n'a pas d'impact sur la fitness de *S. titanus***

La synchronisation de *S. titanus* avec la vigne peut représenter un avantage adaptatif important leur permettant de bénéficier d'une alimentation optimale quantitativement et qualitativement, les insectes spécialistes préféreraient en général s'alimenter sur les jeunes organes (Cates 1980). L'étude de la composition du phloème entre feuilles d'âges différents a montré une variation quantitative de la teneur en saccharose et qualitative de la composition en acides aminés.

La composition du phloème est variable entre feuilles de boutures d'âges différents, mais aussi au sein d'une même plante entre feuilles d'âges différents. Ceci peut s'expliquer par des différences d'activités métaboliques. Les jeunes organes sont des "puits" qui vont attirer des composés produits par d'autres organes de la plante puis les consommer pour assurer leur développement. Au contraire, les feuilles développées, de par leur activité photosynthétique intense, sont des "sources", en particulier de composés carbonés tels que le saccharose (Araya *et al.* 2006). Les feuilles les plus âgées se trouvent donc être les moins nutritives car elles ont le ratio C:N le plus élevé (Wilkinson & Douglas 2003; Jonas & Joern 2008) et ont une plus faible teneur en acides aminés essentiels (Hunt *et al.* 2006; Bi *et al.* 2007). Cette diminution de la qualité de la ressource existe chez de nombreuses espèces végétales et incite en général

les insectes phytophages à s'alimenter sur les jeunes organes afin d'augmenter leur succès reproducteur (Karley *et al.* 2002; Bi *et al.* 2007).

Les traits de vie mesurés n'ont pas été affectés par l'âge des plantes sur lesquelles les insectes se sont alimentés. Les différences de qualités mesurées ne sont donc pas assez importantes pour générer des différences suffisantes. On sait que les Homoptères comme les pucerons possèdent de nombreux symbiontes secondaires assurant de nombreuses fonctions et permettant aux insectes qui les hébergent d'étendre leur niche écologique (Oliver *et al.* 2010). Ces micro-organismes symbiotiques sont par exemple capables de pallier la faible qualité de l'alimentation par la synthèse de vitamines et des acides aminés essentiels (Douglas 1998; Chandler *et al.* 2008; Douglas 2009) à partir d'éléments tels que le saccharose ou d'acides aminés comme l'aspartate ou la glutamine (Sasaki & Ishikawa 1995). L'étude de la flore microbienne de *S. titanus* a mis en évidence l'existence de nombreux symbiontes (Marzorati *et al.* 2006; Sacchi *et al.* 2008; Crotti *et al.* 2009). On peut aisément supposer que si la composition en acides aminés des feuilles âgées est un facteur limitant pour le développement de *S. titanus*, il peut être comblé via la synthèse d'acides aminés essentiels par des symbiontes, par exemple à partir de la glutamine dont le phloème de vigne est riche. On aurait cependant pu s'attendre à ce que les différences de qualité des feuilles aient pour conséquences des différences de fitness en affectant les symbiontes (Wilkinson *et al.* 2001; Chandler *et al.* 2008).

#### **4. Les températures hivernales ont également un effet sur le sex-ratio opérationnel (SRO) et la fitness individuelle.**

Une altération du degré de protandrie a souvent pour conséquence une diminution de la qualité de la reproduction dans une population (Grant *et al.* 1995; Clutton-Brock 2007). Les possibilités d'accouplements ne dépendent pas du sex-ratio final mais du SRO qui correspond au nombre de mâles sexuellement actifs prêts à se reproduire par femelle réceptives disponibles au cours du temps (Grant *et al.* 1995; Clutton-Brock 2007). C'est donc la valeur du SRO qui détermine le succès reproducteur pour l'accouplement (Kvarnemo & Ahnesjö 1996).

Depuis Darwin (1871), l'existence de la protandrie chez les insectes est souvent expliquée comme un trait d'histoire de vie lié à la sélection sexuelle. Elle favoriserait l'accouplement des mâles émergeant en premier, particulièrement chez les espèces monovoltines ou avec des générations discrètes (Fagerström & Wiklund 1977; Scott 1977; Zonneveld & Metz 1991; Morbey & Ydenberg 2001). Dans certains cas, il a été montré que la

sélection naturelle pouvait également maintenir la protandrie en favorisant des petits mâles et des grandes femelles, les premiers nécessitant un temps de développement plus court et émergeant en premier (Nylin & Gotthard 1998). Concernant *S. titanus*, plusieurs traits de sa biologie tels que le monovoltinisme, la monoandrie<sup>1</sup> et la polygynie<sup>2</sup> sont caractéristiques d'une protandrie résultant d'une sélection sexuelle.

Si la protandrie est un produit de la sélection sexuelle, donc le résultat de la sélection sur les mâles en maximisant leurs accouplements, le degré de protandrie devrait être peu sensible aux conditions environnementales. En effet, si la protandrie est sélectionnée à travers la sélection sexuelle dans des environnements saisonniers, les pressions de sélection de l'environnement (climat, photopériode...) n'agiront pas différemment sur les mâles et les femelles (Nylin *et al.* 1993). Une seule population d'œufs soumise à 2 conditions thermiques différentes a conduit à l'apparition de 2 sous populations, avec et sans protandrie, ce qui laisse supposer que la sélection naturelle joue un rôle supérieur à celui de la sélection sexuelle dans le maintien de la protandrie chez *S. titanus*. La sélection naturelle aurait maintenu la protandrie en conservant la différence de sensibilité au froid entre les mâles et les femelles. L'action d'un facteur environnemental, ici la température, sur les œufs peut donc affecter la protandrie en agissant sur un seul des sexes. Il s'agit de la première observation d'un tel phénomène chez un insecte qui a uniquement été décrit chez les oiseaux (Bogdanova & Nager 2008). L'exposition des œufs à 20 °C ne supprime cependant pas totalement la protandrie. En effet, les femelles, plus grandes, mettent plus de temps à se développer que les mâles. On peut supposer que les mâles et les femelles ont la même vitesse de développement mais que comme ces dernières sont plus grandes, il leur faut plus de temps pour devenir adultes. Ainsi, la différence de taille entre les 2 sexes maintenue par la sélection naturelle affecte aussi la protandrie (Nylin *et al.* 1993).

La protandrie n'est pas un phénomène statique et peut en théorie évoluer rapidement (Bradshaw *et al.* 1997). Les résultats que nous avons obtenus démontrent que chez *S. titanus* les profils d'éclosion des mâles sont similaires quelle que soit la température d'incubation, alors que ceux des femelles sont radicalement différents. C'est donc la plasticité des dynamiques d'éclosion des femelles qui est responsable de la variation du degré de protandrie. On peut donc postuler que la plasticité des dynamiques d'éclosion ne concerne pas uniquement les mâles, mais plus généralement un sexe ou les deux selon les espèces. Cette plasticité des femelles affecte grandement le SRO. Ainsi il est souvent proche de 1 après une

---

<sup>1</sup> Monoandrie : les femelles ne s'accouplent qu'une fois.

<sup>2</sup> Polygynie : les mâles peuvent s'accoupler plusieurs fois.

exposition à 20 °C, alors qu'il augmente exponentiellement après que les œufs aient subi 3 mois de froid. Or il est important que les mâles émergent avant les femelles afin d'éviter la consanguinité (Morbey & Ydenberg 2001). Cela est souvent observé lorsque les mâles sont plus mobiles que les femelles (Clutton-Brock 2007), comme c'est le cas chez *S. titanus*. Ainsi, un faible degré de protandrie peut augmenter la consanguinité et donc conduire à une diminution de la fitness de la population.

De nombreux traits d'histoire de vie des ectothermes dépendent de la température ambiante (Huey & Berrigan 2001; Kingsolver & Huey 2008; Angilletta *et al.* 2009). Ainsi, des températures élevées durant le développement post-éclosion ont généralement pour effets de générer des taux de développement plus élevés, des temps de développement plus courts et des adultes de petite taille (Sibly & Atkinson 1994). Les températures ont donc des conséquences importantes puisque la taille et le poids sont en général positivement corrélés avec le succès reproducteur des insectes (Nylin & Gotthard 1998). Le poids est également un paramètre souvent corrélé positivement avec les performances de vol, donc avec les capacités de dispersion (Marden 2000). Ce paramètre est particulièrement important pour les mâles puisqu'il détermine leur mobilité et donc leur capacité à trouver des femelles pour s'accoupler (Tammaru *et al.* 1996).

Les températures auxquelles sont soumis les embryons durant l'incubation des œufs peuvent aussi être très importantes. Ce sont elles, par exemple, qui sont responsables de la détermination du sexe chez les reptiles (Ewert & Nelson 2003; Parrott & Logan 2010). Les températures hivernales auxquelles sont exposés les œufs, en plus des effets cités précédemment, ont des effets sur le développement de *S. titanus* après l'éclosion et donc sur sa fitness. Ainsi, les températures les plus élevées (20 °C) ont produit des individus plus grands, plus lourds et avec une vitesse de développement plus rapide. De tels effets sur le développement post-éclosion n'avaient jamais été rapportés chez un insecte et ont seulement été décrits pour des ectothermes chez les reptiles (Shine 2004; Booth 2006) et pour les endothermes chez des oiseaux (DuRant *et al.* 2010).

Si avoir une grande taille est en général positif en terme de fitness, être petit peut être un avantage dans des conditions où la nourriture est un facteur limitant puisque les individus les plus petits nécessitent moins de nourriture pour survivre (Dingle 1992). Dans l'habitat européen de *S. titanus*, le vignoble, la disponibilité en nourriture n'est pas un facteur limitant et une grande taille ne peut être un désavantage concernant ce point précis. Le temps requis pour devenir adulte, se reproduire et propager ses gènes est un facteur critique dans le cycle de vie d'un insecte (Nylin & Gotthard 1998), car plus ce temps est court et moins l'insecte sera

exposé aux prédateurs, pathogènes et autres facteurs de mortalité. En cela, être grand constitue un désavantage car un trade-off est généralement observé entre le temps de développement des juvéniles et la taille des adultes (Sibly & Calow 1986). Ce trade-off n'a pas été observé pour *S. titanus* puisque les tailles et masses plus élevées des individus issus d'œufs exposés à une température constante de 20 °C n'ont pas eu pour conséquence un plus long temps de développement. En effet, la moyenne de l'indice de développement de la population issue d'une exposition à 20 °C est toujours supérieure à celle exposée à 5 °C.

En résumé, les hivers doux semblent procurer une meilleure fitness individuelle que les hivers froids mais une fitness populationnelle plus faible en altérant la protandrie. Les valeurs moins élevées de traits d'histoire de vie (taille, poids, vitesse de développement) des individus exposés à un hiver froid semblent être le coût pour une asynchronie optimale entre l'émergence des mâles et des femelles avec pour conséquence une fitness populationnelle plus élevée.

## 5. Apport de ces connaissances dans l'épidémiologie de la FD

Les résultats présentés dans ce mémoire permettent d'éclairer un peu mieux le processus épidémiologique de la FD. Les températures hivernales déterminent la présence plus ou moins tardive des larves, la durée de l'étalement des éclosions ainsi que la date du pic d'éclosion. Ce paramètre est très important dans la prévision des premières éclosions afin d'ajuster au mieux la lutte contre les larves avant qu'elles n'aient eu le temps d'acquérir le phytoplasme. La date du premier traitement est actuellement fixée à environ 30 jours après la première éclosion quelle que soient les conditions climatiques de l'hiver précédent. Cependant les dynamiques d'éclosion varient selon les températures hivernales. La figure 22 montre par exemple qu'un traitement effectué 29 jours après le début des éclosions sera dirigé contre environ 50 % de la population de cicadelles en Aquitaine contre 75 % en Bourgogne. Les relevés de températures hivernales devraient alors être pris en compte pour adapter la lutte contre le vecteur, notamment en ce qui concerne les dates d'application des traitements

- Prévision des zones susceptibles d'être colonisées par le vecteur

Des températures hivernales élevées ne sont pas une entrave à la levée de diapause. On ne peut donc plus expliquer la limitation de l'extension de *S. titanus* dans les vignobles du Sud de l'Europe par une absence d'éclosion due à un manque de froid. En revanche, l'étalement et l'absence de protandrie qu'elles causent peuvent en partie l'expliquer. L'absence de protandrie est préjudiciable à la prolifération de l'insecte. En effet, chez les insectes avec

une stratégie de reproduction semblable à *S. titanus* (les mâles pouvant s'accoupler plusieurs fois et la femelle une seule fois), la protandrie assure un maximum de femelles fécondées par les "meilleurs" mâles. En l'absence de protandrie, les femelles ont moins de choix quant à la qualité du partenaire et un pourcentage plus faible de femelles se trouvera fécondé. Cela conduit inmanquablement à une diminution du nombre de descendants ainsi que de leur qualité. Le réchauffement des hivers prévu (IPCC 2007) pourrait réduire l'aire de distribution de *S. titanus* au Sud en conduisant à la disparition dans certaines zones des populations les plus au Sud où les effectifs sont faibles comme dans le Basilicate en Italie (Viggiani 2002).

- Importance des températures hivernales sur la synchronisation du tryptique *S. titanus* / *V. vinifera* / 'Ca. Phytoplasma vitis'

Après inoculation dans une feuille par l'insecte, les phytoplasmes descendent dans les racines où ils se multiplient puis vont coloniser avec une distribution irrégulière les organes en développement le printemps suivant (Boudon-Padieu 2000). Il a été démontré que la distribution des phytoplasmes dans une plante tend à devenir uniforme avec le temps (Wei *et al.* 2004). Donc plus la rencontre entre le vecteur et la plante hôte infectée se produit longtemps après la reprise de végétation et plus la probabilité que le vecteur entre en contact avec le phytoplasme est élevée. Par conséquent, plus le pic d'éclosion de *S. titanus* va être proche du débourrement de la vigne, plus la probabilité pour une cicadelle de rencontrer un phytoplasme sera faible. Donc, même si les effets de la température sur la multiplication des phytoplasmes sont peu documentés, **les conséquences des conditions thermiques de l'hiver peuvent avoir une grande influence sur la propagation de la FD.** Après un hiver froid, le débourrement de la vigne est tardif (Aauri *et al.* 2005) et les éclosions de *S. titanus* sont plus précoces. Peu de jeunes cicadelles, en particulier les mâles qui éclosent en premier et sont de meilleurs vecteurs (Lefol *et al.* 1994), seront en contact avec une forte prévalence de phytoplasmes dans la plante, contrairement à la suite d'un hiver doux où le débourrement aura lieu plus tôt et les éclosions plus tard. Les plantes atteintes de FD se manifestant par un débourrement tardif (Caudwell 1964b), plus un insecte éclosa précocement, plus la probabilité d'acquérir le phytoplasme se fera donc à un âge avancé. Or, compte tenu du temps de latence pendant lequel le phytoplasme se multiplie dans l'insecte (1 mois), plus le phytoplasme sera acquis tardivement et plus la probabilité de pouvoir le transmettre à une autre plante sera faible. **La dynamique d'éclosion du vecteur est donc un paramètre important dans la compréhension de l'épidémiologie de la FD.**



# **Chapitre 2**

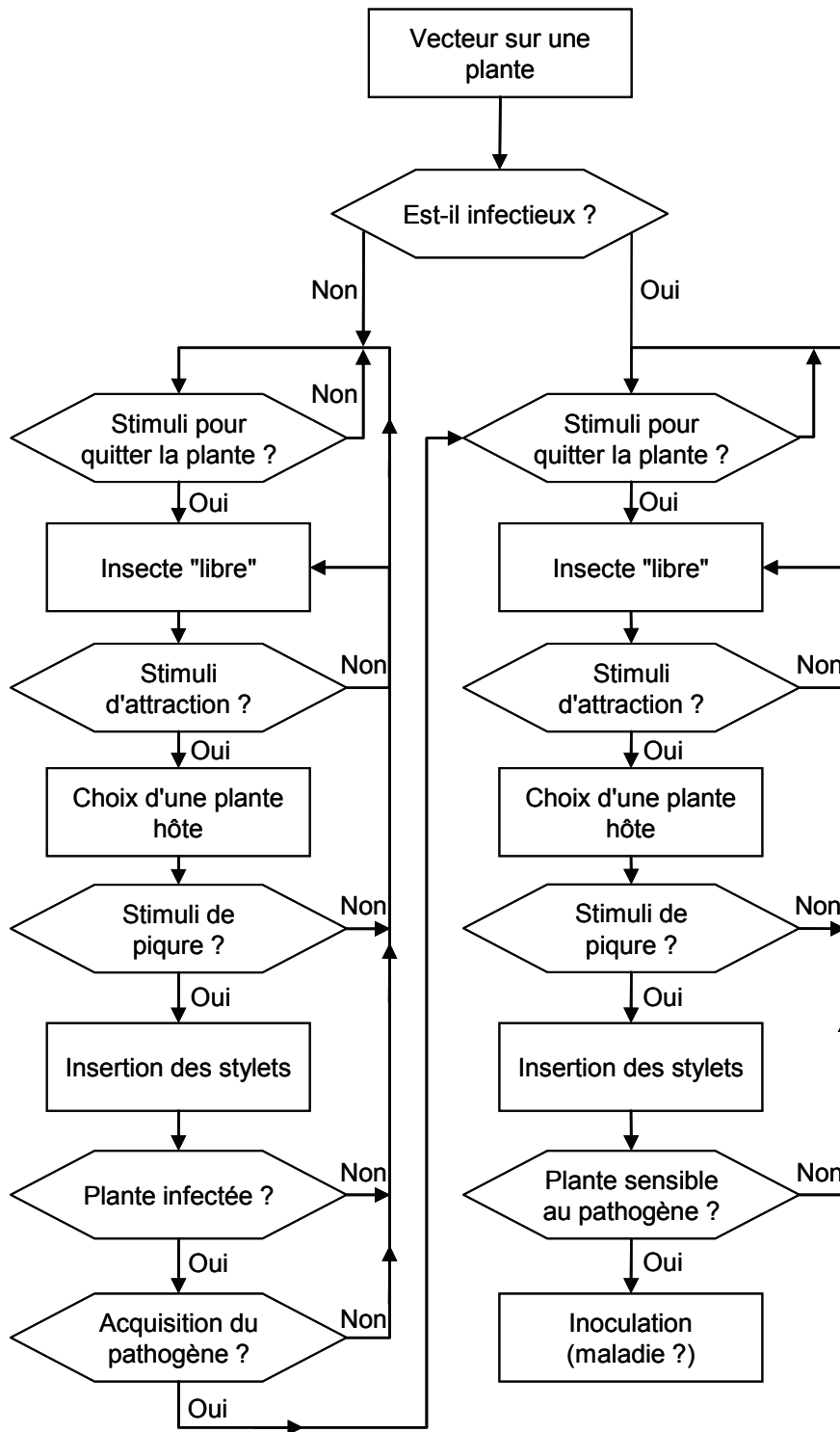
## **Attractivité de la plante hôte**

## A. Introduction

La propagation naturelle des phytoplasmes de plante infectée à plante saine est principalement due aux insectes vecteurs. Si les relations vecteur / pathogène sont des composantes importantes de l'épidémiologie des phytopathologies transmises, les relations trophiques entre le vecteur et la plante, la capacité du phytoplasme à coloniser la plante et à être vectée par des insectes sont aussi des étapes clé dans la création d'un système plante / phytoplasme / insecte. Une fois que le phytoplasme est adapté à une nouvelle plante hôte et/ou à un nouvel insecte vecteur, il peut se répandre dans la population de plante hôte. La propagation d'un pathogène depuis une plante infectée vers une plante saine par un insecte vecteur dépend alors d'une séquence définie d'évènements (Perring *et al.* 1999) (Fig. 37). La connaissance des relations entre les trois éléments du système : la plante, l'agent pathogène et le vecteur est cruciale pour la compréhension de l'épidémiologie des maladies vectées et pour appliquer les stratégies de lutte les plus adaptées.

Le phytoplasme de la FD est transmis de vigne à vigne spécifiquement par *S. tianus*. Ce haut degré de spécificité de vexion fait que la propagation de la maladie d'une plante à l'autre va être assurée uniquement par les déplacements de cet insecte. Ceux-ci sont conditionnés par plusieurs traits d'histoire de vie du vecteur, mais aussi par sa gamme de plante hôte, la disponibilité et l'état de ces hôtes, ainsi que leur statut de réservoir d'inoculum (Carter 1961). Quelques études ont porté sur l'étude de traits d'histoire de vie comme le comportement d'agrégation (Bosco *et al.* 1997; Lessio & Alma 2006), l'activité de vol des adultes (Lessio & Alma 2004a; 2004b; Lessio *et al.* 2009a) et les déplacements entre le vignoble et la végétation environnante (Weintraub & Beanland 2006). En revanche, l'importance des caractéristiques de la plante sur le choix du site d'alimentation n'a été que peu étudiée.

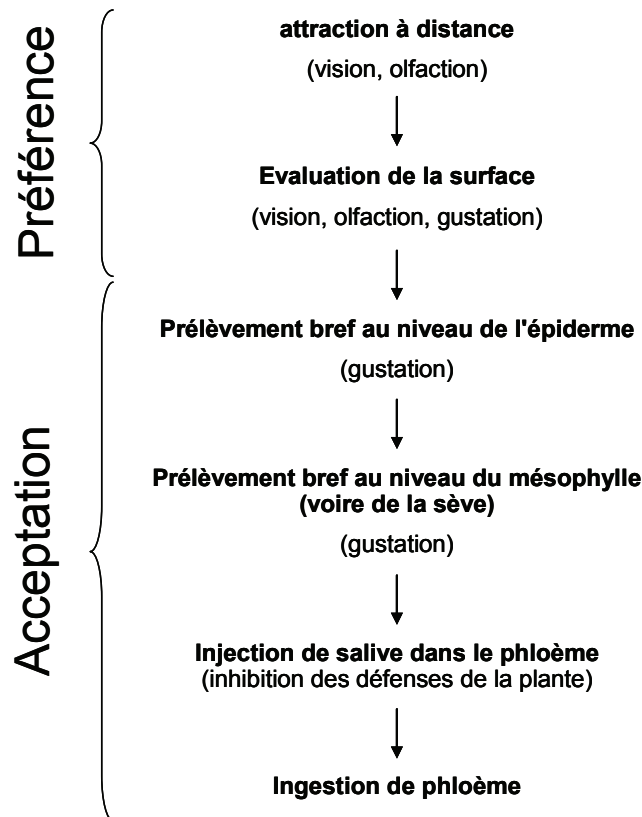
Détecter et localiser des plantes hôtes pertinentes est une tâche impliquant des mécanismes de détection sophistiqués (Thiéry *et al.* 2011a; 2011b). De nombreux facteurs gouvernent l'établissement des insectes phytophages sur les plantes. Le processus de sélection de l'hôte est souvent analysé comme un continuum entre le choix de l'hôte à distance, par l'utilisation d'indices visuels et olfactifs, et la sélection de l'hôte après contact, par perception des propriétés gustatives de la plante (Visser 1988). Ce processus dépend ensuite de l'intégration au niveau du système nerveux central de l'insecte d'un grand nombre de contributions, incluant des stimuli olfactifs et gustatifs, et des informations physiques telles que la couleur de la plante, sa forme et sa texture (Bruce *et al.* 2005). La reconnaissance de la plante comme un hôte possible nécessite enfin la prise en compte d'une combinaison précise de stimuli qui déclencheront l'attraction ou la "fixation" de l'insecte.



**Figure 37.** Séquence comportementale de transmission d'un pathogène par un vecteur. D'après Perring *et al.* 1999.

Le comportement de pré-atterrissage des pucerons décrit par Powell *et al.* (2006), et correspondant à l'attraction à distance, peut être étendu aux cicadelles (Fig. 38). Ce mécanisme d'orientation fait appel à deux grandes fonctions sensorielles : la vision et l'olfaction. Si ce comportement est propre aux adultes, les larves de cicadelles possèdent

malgré tout une capacité de dispersion évidente (Tipping *et al.* 2004) et de tels comportements peuvent également s'y appliquer.



**Figure 38.** Séquence comportementale de choix d'une plante comme site d'alimentation. D'après Powell *et al.* 2006.

Trois types d'informations visuelles produites par la plante servent d'indices à l'insecte : la qualité spectrale, les dimensions et la forme (Prokopy & Owens 1983). La qualité spectrale est affectée par de nombreux paramètres dont la composition pigmentaire qui varie en particulier selon l'état de stress et la composition nutritionnelle de la plante, la présence de cires cuticulaires, de pubescence, la teneur en eau... (Prokopy & Owens 1983). Tous ces paramètres varient en fonction du stade de développement de la plante et des organes observés, ainsi que des conditions environnementales : angles d'éclairage et de vue, luminosité... (Prokopy & Owens 1983). La vision permet également de connaître l'état physiologique de la plante et de réaliser une première discrimination entre les plantes qui conviennent à un développement optimal et celles qui ne le permettent pas. Ainsi, la sensibilité spectrale des Homoptères s'étend de 350 à 600 nm, avec un optimum à 550 nm, ce qui suggère une sensibilité liée à la détection de teintes foliaires (Prokopy & Owens 1983). La détection de la qualité spectrale et des caractéristiques morphologiques (forme et dimensions) permet une meilleure discrimination que la qualité spectrale seule.

L'olfaction a aussi un rôle majeur dans la sélection de la plante hôte. La spécificité de l'attractivité olfactive d'une plante peut être basée sur la présence de composés volatils spécifiques ou sur un ratio particulier de molécules présentes dans une grande variété de plantes (Visser 1986). Si les odeurs de plantes sont beaucoup utilisées par les femelles pour sélectionner leur site de ponte, elles sont aussi utilisées par les larves pour sélectionner leur site d'alimentation (Visser 1986). Les molécules volatiles émises par les plantes sont transportées par les mouvements d'air. Les insectes phytophages qui se déplacent utilisent, parmi d'autres mécanismes, l'anémotaxisme induit par les odeurs émises par leur plante hôte pour les localiser dans un environnement hétérogène. Cela leur permet de s'orienter efficacement par rapport au flux d'air, en utilisant leurs récepteurs mécaniques très performants, et de remonter le flux d'air jusqu'à la source d'odeur (Sabelis & Schippers 1984; Bruce *et al.* 2005; Williams *et al.* 2007; Schroeder & Hilker 2008). Ainsi, l'orientation des cicadelles peut s'effectuer en réponse à certains stimuli olfactifs provenant des feuilles de leur plante hôte (Saxena *et al.* 1974). En plus d'utiliser les odeurs émises par la plante pour s'orienter à distance et localiser leur hôte, les insectes phytophages peuvent s'en servir pour décider de rester ou non sur la plante par laquelle ils ont été attirés (Arruda *et al.* 2005; Ngumbi *et al.* 2007; Miller *et al.* 2009).

La vision et l'olfaction sont utilisées conjointement par de nombreux insectes phytophages pour localiser leur plante hôte et la présence simultanée des deux types de stimulations peut réguler leur comportement. En effet, la présence de stimuli olfactifs peut renforcer l'attractivité de stimuli visuels (Todd *et al.* 1990b; Patt & Setamou 2007). Cependant, les stimuli visuels et olfactifs ne sont pas toujours d'importance égale. Ainsi, *Altica engstroemi* (Coleoptera, Chrysomelidae), contrairement aux autres chrysomèles, privilégie la vision à l'olfaction dans la recherche de sa plante hôte (Stenberg & Ericson 2007).

Les agents pathogènes sont capables d'interférer avec ce système et par exemple de modifier les informations olfactives et visuelles produites par la plante qu'ils colonisent afin de la rendre plus attractive pour leur vecteur, augmentant ainsi leur probabilité d'être transmis (Sisterson 2008). Le jaunissement des feuilles malades est ainsi un élément causal de la forte attraction qui peut être exercée par les plantes malades sur les vecteurs (Hodge & Powell 2008), tout comme la modification de l'architecture de la plante (Hoshi *et al.* 2009) ou la production de composés volatils attractifs (Mayer *et al.* 2008a). Cette attraction n'est pas uniquement due à un état de stress général de la plante puisque les insectes sont capables de discerner la nature du stress de la plante et d'adopter un comportement différent (Ameline *et al.* 2007).

L'analyse des mécanismes impliqués dans le choix de la plante hôte par le vecteur de la FD permettrait ainsi une meilleure compréhension des processus de propagation de la maladie et de développer des méthodes alternatives de lutte consistant à rendre la plante hôte moins attractive, moins appétante, voire répulsive. Dans ce chapitre seront présentés les travaux concernant les réponses de *S. titanus* à des stimuli olfactifs et visuels, ainsi qu'en situation de choix de plantes d'hôtes, afin de répondre à l'aide d'une approche comportementale aux questions suivantes :

- **Quel est le rôle de l'olfaction dans l'attraction de *S. titanus* par sa plante hôte ?**
- **Quels sont les couleurs les plus attractives pour *S. titanus* ?**
- **L'attractivité des plantes est-elle modifiée par la FD ?**
- **Les larves et les adultes expriment-ils les mêmes préférences vis-à-vis de leur ressource ?**
- **Est-il possible de modifier l'attractivité de la vigne pour *S. titanus* en utilisant des molécules altérant son apparence ou son appétance ?**

## B. Matériels et méthodes

### 1. Attractivité olfactive de la plante

Quatre dispositifs expérimentaux différents ont été utilisés pour tenter de déterminer l'importance de l'olfaction dans l'attraction à distance des larves de *S. titanus* par sa plante hôte :

- Un olfactomètre à quatre voies (Fig. 39a). Le dispositif utilisé est similaire à celui décrit dans Couty *et al.* (1999). L'olfactomètre comprend quatre zones formées par les quatre arrivées d'air et l'expérience consiste à mesurer le temps passé par un individu dans chaque zone. Dix individus par stade larvaire (L1, L2 et L5) ont eu le choix entre : deux sources d'air ayant chacune traversé un flacon en verre (vol = 2 l) contenant une bouture de vigne (Cabernet Sauvignon) et deux sources d'air non odorisé. Six débits différents, compris entre 0,1 et 2 l.min<sup>-1</sup>, ont été testés. La moitié des individus ont été mis à jeûner 4 h afin d'augmenter leur motivation pour la recherche de nourriture. Il a en effet été montré chez de

nombreux insectes que la satiété était liée à l'état motivationnel (Barton-Browne 1964; Wallin 1991; Thiéry & Visser 1995; Nakashima *et al.* 2002).

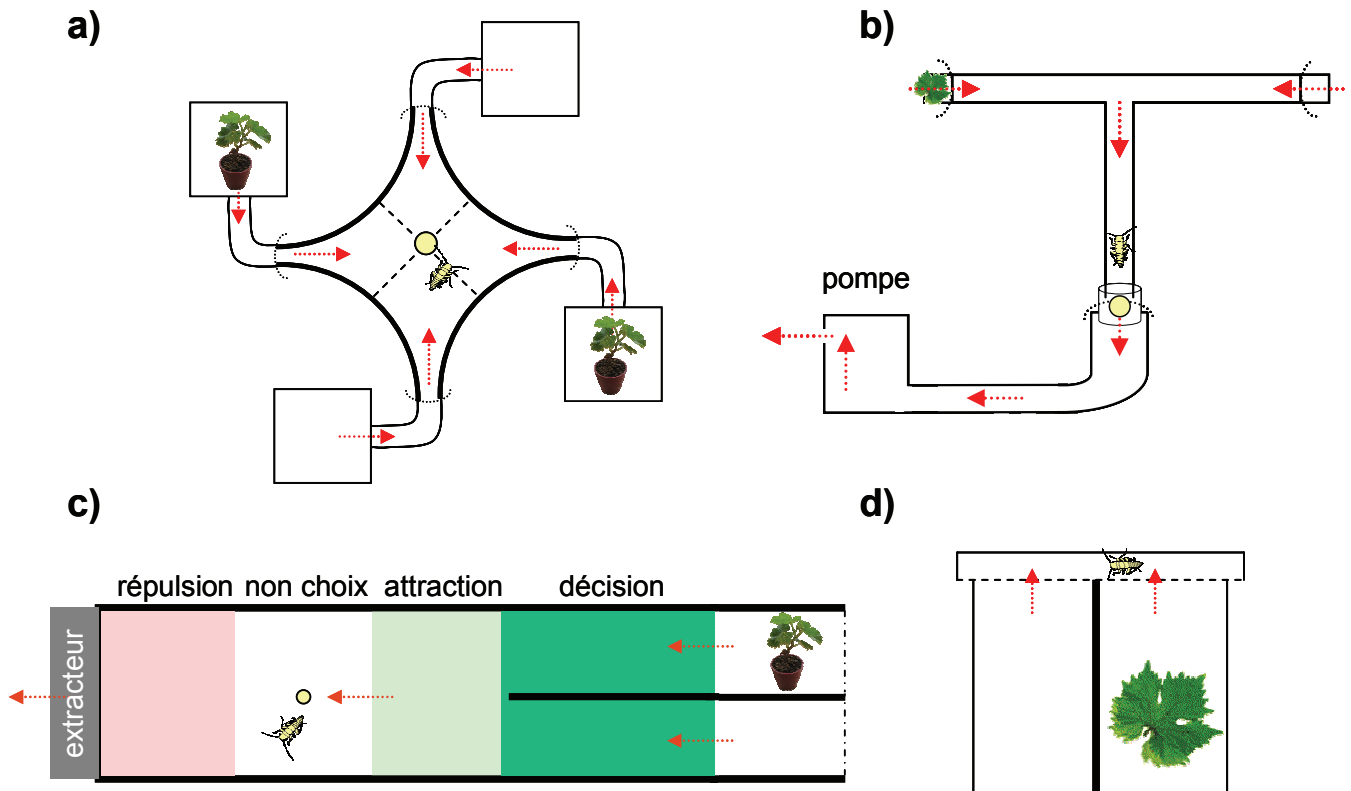
- Un olfactomètre en T (Fig. 39b). Comme pour l'expérience utilisant l'olfactomètre à 4 voies, des larves de 1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> stades ont été utilisées (N = 10 pour chaque stade). Le protocole utilisé est le même que dans Chuche *et al.* (2006). La larve est introduite à la base du T. En remontant le tube, elle arrive à l'embranchement où elle est confrontée à deux sources d'odeurs distinctes provenant de chaque branche du T : de l'air odorisé avec une feuille de Cabernet Sauvignon ou non odorisé. C'est à ce niveau que le choix d'aller préférentiellement vers l'une ou l'autre des branches se fait. On considère que l'animal a fait un choix lorsqu'il s'immobilise au moins 10 secondes consécutives contre une extrémité. On arrête l'expérience au bout de 5 minutes si aucun choix n'est observé. Après avoir noté le choix (ou le non choix), la cicadelle est retirée de l'olfactomètre et le T en verre changé afin d'éviter un éventuel marquage olfactif. Nous avons utilisé les mêmes paramètres de débit et de jeûne que ceux décrits précédemment.

- Un olfactomètre linéaire (Fig. 39c). Les larves se déplaçant beaucoup par sauts, un olfactomètre linéaire en verre a aussi été utilisé. Il s'agit d'un dispositif de grandes dimensions (90 x 20 x 6 cm) développé par D. Thiéry (non publié) pour des microlépidoptères et qui permet une locomotion aisée des cicadelles. Une extrémité de l'olfactomètre permet l'entrée de deux sources d'odeurs parallèles: ici, une bouture de Cabernet Sauvignon et de l'air non odorisé. Un extracteur d'air à flux laminaire, disposé à l'autre extrémité, aspire l'air intérieur de l'olfactomètre et entraîne sa circulation depuis les sources d'odeurs vers la sortie. Quatre zones distinctes de surface égale ont été définies : une zone de non choix située autour du site d'introduction des cicadelles, une zone de répulsion en aval, une zone d'attraction en amont, et une zone de décision à l'endroit où les deux odeurs sont séparées. Ce dispositif plus grand nous a permis de tester des adultes (N = 53), en plus des L1 (N = 47) et des L5 (N = 36). Les cicadelles, ayant préalablement jeûné environ 4 h, sont introduites dans le dispositif par groupes d'une dizaine d'individus. La position des insectes à l'intérieur du dispositif est relevée 2 et 10 min après leur insertion dans l'olfactomètre. Le relevé à 2 min correspond à la position initiale des cicadelles et on considère qu'au bout de 10 min, les cicadelles ont eu le temps d'atteindre n'importe quel point de l'olfactomètre et d'exprimer une réponse par rapport à la source d'odeur.

- Un olfactomètre sans flux d'air (Fig. 39d). Afin d'éliminer les effets de la circulation de l'air sur le comportement des cicadelles, un dernier dispositif expérimental a été mis au point. Celui-ci est composé d'une boîte de Pétri ( $\varnothing$  : 8,5 cm), dont le fond a été remplacé par un tissu de fibre de verre opaque noir, posée sur un récipient cylindrique en plastique ( $\varnothing$  : 7



cm à la base et 9 cm à l'ouverture ; h : 8 cm). Ce dernier est cloisonné en deux compartiments étanches grâce à une lame de plastique et un joint en silicone. L'un des deux contient une feuille de vigne faisant office de source d'odeur, l'autre rien. On mesure le temps passé au-dessus de chaque partie par une cicadelle de stade L1 ou L5 pendant 10 min. Cinquante larves de chaque stade larvaire sont testées.



**Figure 39.** Dispositifs utilisés en olfactométrie. a) : olfactomètre à 4 voies, b) : olfactomètre en T, c) olfactomètre linéaire, d) olfactomètre sans flux d'air. Dimensions dans le texte.

## 2. Effet fixateur<sup>1</sup> des odeurs de la plante hôte

Les odeurs de plante hôte, au-delà de leur attraction à distance, peuvent aussi être un indice utilisé par les insectes phytophages une fois qu'ils sont sur une plante pour décider d'y rester. Un dispositif expérimental semblable à l'olfactomètre sans flux (Fig. 39d) a été utilisé pour vérifier l'hypothèse d'une fixation des larves sur le site d'alimentation par l'intermédiaire des odeurs de feuilles. Une boîte de Pétri ( $\varnothing$  : 8,5 cm), dont le fond a été remplacé par du tissu noir, est posée sur un récipient cylindrique en plastique sans cloison ( $\varnothing$  : 5,5 cm ; h : 6,5 cm). On peut disposer à l'intérieur de ce dernier une feuille de vigne faisant office de source

<sup>1</sup> Nous utilisons le terme fixateur qui correspond au vocable "arrestment" anglo-saxon.

d'odeur. Un carré de papier vert (3 x 3 cm) est placé au centre de la boîte de Pétri. On mesure le temps passé sur le papier par une cicadelle, au cours des 10 min que dure l'expérience, en absence et en présence d'odeur. Quatre vingt seize L1 et 173 L5 ont été utilisées.

### 3. Mesure de la sensibilité olfactive des antennes

Pour vérifier l'existence de récepteurs olfactifs fonctionnels sur les antennes de *S. titanus*, nous avons enregistré des électroantennogrammes (EAG) en réponse à des stimulations odorantes véhiculées par un flux d'air. Cette technique permet, en utilisant des électrodes de faible impédance, d'enregistrer la génération de potentiels d'action sur une antenne entière et isolée en réponse à des substances volatiles. Le dispositif expérimental est similaire à celui décrit par Thiéry et Marion-Poll (1998). Une antenne d'adulte est placée entre deux électrodes en Ag/AgCl grâce à un gel conducteur (Spectra 360 ; Parker Laboratories Fairfield, USA) sous un flux constant d'air humidifié (1,07 m.s<sup>-1</sup>). La stimulation de l'antenne consiste en l'envoi d'un flux d'air odorisé dans le flux d'air principal pendant 0,5 s à l'aide du module "Stimulus controler" (Syntech, Hilversum, Pays-Bas). L'air odorisé est produit en faisant passer de l'air à travers une pipette Pasteur contenant 20 µl d'extrait déposé sur une bandelette de papier Wattman. La réponse électrique de l'antenne à l'extrait est enregistrée et transmise à l'ordinateur grâce au module "Autospike IDAC 2/3" (Syntech). Le logiciel EAG 2.6 (Syntech) permet ensuite la visualisation et le traitement des données.

Les réponses aux extraits sont exprimées en pourcentage par rapport à la réponse de l'antenne à l'hexanol, molécule ubiquitaire détectée par la plupart des insectes phytophages. La réponse à ce composé permet d'évaluer la diminution d'amplitude de la réponse au cours du temps sur une série de molécules testées et présentées de manière séquentielle. Pour cela, la réponse de l'antenne à l'hexanol est mesurée avant et après les réponses aux extraits. Ces dernières sont ainsi corrigées grâce à l'équation suivante (Thiéry & Marion-Poll 1998) :

$$C_{\alpha} = R_{\alpha} \times 100 / (S_1 + ((S_2 - S_1) \times r_{\alpha} / r_{S2}))$$

$C_{\alpha}$  = réponse relative au standard hexanol (en %) ;  $R_{\alpha}$  = réponse brute au stimulus  $\alpha$  (en mV) ;  $S_1$  = réponse brute au standard précédant  $\alpha$  ;  $S_2$  = réponse brute au standard suivant  $\alpha$  ;  $r_{\alpha}$  = rang du stimulus  $\alpha$  entre les deux standards consécutifs ;  $r_{S2}$  = rang du standard suivant  $\alpha$ .

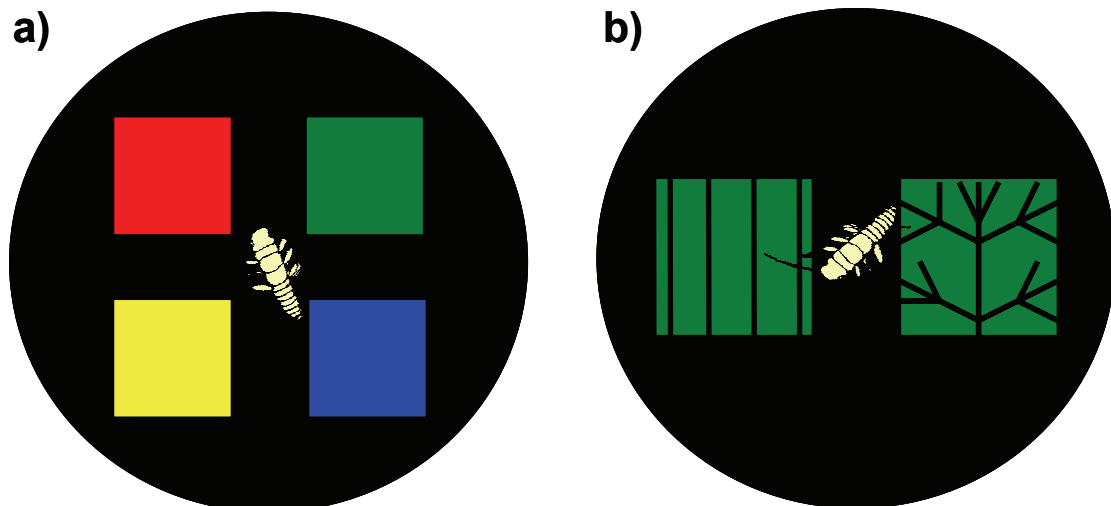
Des molécules volatiles caractéristiques d'odeurs de plante ont été testées (heptanal,  $\beta$ -thujone, géraniol,  $\beta$ -caryophyllène, linalol et limonène), ainsi que des molécules volatiles intervenant dans la réponse des plantes à des agressions biotiques (acide jasmonique et salicylate de méthyle), notamment via l'attraction d'ennemis naturels des phytophages

(Walling 2000). Ces molécules ont été diluées à  $10^{-2}$  vol.vol<sup>-1</sup> dans de l'huile de paraffine. Les antennes des cicadelles ont aussi été soumises à des composés odorants complexes issus d'extraction dans l'huile de paraffine de différents organes de vigne (feuilles de Cinsaut et de Cabernet-Sauvignon, sarment vert, écorce). L'extraction est réalisée à température ambiante avec 5 ml de paraffine pour 0,5 g de matière fraîche broyée à l'aide d'un mixeur (Blender 8010 E ; Waring, New Hartford, USA) pendant 24 heures.

Pour les produits purs, 6 femelles et 6 mâles ont été testés. Pour les extraits de vigne, les EAG de 9 femelles et 8 mâles ont été enregistrés et analysés.

#### 4. Attractivité de stimuli visuels

Les stimuli visuels sont généralement très importants pour les cicadelles (Bullas-Appleton *et al.* 2004; Patt & Setamou 2007). L'attractivité de différentes couleurs ont été testées. Pour cela, des larves écloses du jour sont mises à jeûner environ 4 h, puis placées individuellement dans des boîtes de Pétri ( $\varnothing$  : 8,5 cm). Ces boîtes sont disposées sur un bristol noir sur lequel sont agencés, à égale distance du centre du dispositif, quatre carrés (2 x 2 cm) de papiers colorés : un bleu (RVB : 0 ; 0 ; 255), un vert (RVB : 46 ; 208 ; 38), un jaune (RVB : 255 ; 255 ; 0) et un rouge (RVB : 255 ; 0 ; 0) (Fig. 40a).



**Figure 40.** Dispositifs utilisés pour les tests de choix impliquant les stimuli visuels. a) : choix de couleurs, b) : choix de structures.

Dans le but de déterminer l'importance de l'architecture du végétal dans l'attractivité visuelle de la plante hôte, nous avons réalisé des tests de choix avec un protocole semblable mais dans lequel les larves ont eu le choix entre deux papiers à fond vert (3 x 3 cm) : l'un

représentant des lignes parallèles, l'autre une structure ramifiée (Fig. 40b) mais dont les sommes des aires des lignes noires étaient égales (Picaud *et al.* 2003).

Pour les deux tests, lorsque l'insecte s'arrête 15 s au-dessus d'un papier, on considère qu'il a fait un choix. Si au bout de 15 min, la cicadelle ne s'est pas arrêtée sur une couleur, elle est retirée et comptabilisée comme non choix. Après chaque essai, la position des différents carrés est modifiée. Cent vingt neuf et 141 L1 ont été utilisées respectivement pour les tests de choix concernant les couleurs et les structures.

## 5. Influence des caractéristiques de la plante hôte

Afin d'étudier les caractéristiques de la plante hôte pouvant affecter la décision de *S. titanus*, nous avons réalisé des tests de choix entre différentes espèces de plantes, différents cépages de vignes, ainsi qu'entre des boutures atteintes ou non de FD.

Deux espèces de plantes ont été utilisées : l'hôte naturel de *S. titanus* et du phytoplasme de la FD en Europe, la vigne, et la plante hôte expérimentale, la fève (*Vicia faba*). Les fèves sont produites à partir de semis alors que les cépages de vigne ont été obtenus à partir de boutures saines. Les deux cépages, le Merlot et le Baco 22 A, ont été choisis pour leur différence de sensibilité à la FD (Tab. 7, p. 51). Les plantes atteintes de FD ont été obtenues par vection. Les phytoplasmes de la souche FD 92 ont été propagés de fèves à fèves grâce à *Euscelidius variegatus*, et transmis de la fève à la vigne (cépage Baco 22 A) par *S. titanus* selon le procédé décrit par Bressan *et al.* (2005b). Les plantes ont été utilisées après apparition des symptômes mais la présence de phytoplasme a été vérifiée par nested-PCR.

De par le statut de quarantaine du phytoplasme, les expériences mettant en contact le phytoplasme de la FD, la vigne et *S. titanus* ont été réalisées dans la serre de haut confinement biologique (S3) de l'UMR GDPP situé sur le site de l'INRA de Bordeaux.

Pour tester les préférences de *S. titanus* entre les différentes plantes, des tests de choix ont été réalisés entre quatre plantes (deux plantes A contre deux plantes B) placées à égales distances l'une de l'autre dans une cage (60 x 60 x 60 cm) en verre et en tissu "insect-proof" (Fig. 41). Un nombre variable de larves ou d'adultes ont été placés au centre de la cage. Le nombre d'individus sur chaque plante a ensuite été dénombré au bout de 9 heures. Six répétitions ont été effectuées pour chaque test.



**Figure 41.** Dispositif expérimental des tests de choix. En rouge : espèce ou état sanitaire A ; en bleu : espèce ou état sanitaire B.

## 6. Vérification de la présence de phytoplasme par la technique de nested-PCR

Le protocole utilisé est celui décrit par Clair *et al.* (2003).

### a) Extraction de L'ADN

#### - Cicadelles

Les cicadelles ont été placées individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml dans lesquels ont été ajoutés 400  $\mu$ l de solution tampon (CTAB 2 % (masse.vol<sup>-1</sup>) + NaCl 1,4 M + Tris 100 mM + EDTA 10 mM ; pH 7,6). Puis, les cicadelles ont été broyées à l'aide d'un pilon jusqu'à complète dilacération des tissus et les tubes mis à incuber au bain-marie 10 min à 65 °C. Ensuite, 400  $\mu$ l de chloroforme ont été ajoutés avant de secouer les tubes. Ceux-ci ont été centrifugés à 13000 tours.min<sup>-1</sup> pendant 10 min, puis la phase aqueuse a été prélevée et déposée dans un nouveau tube Eppendorf de 1,5 ml. Après ajout de 400  $\mu$ l d'isopropanol, les tubes ont été agités manuellement et laissé au repos 5 min. Ensuite, les tubes ont subi 5 min de centrifugation à 12 000 tours.min<sup>-1</sup> avant élimination du surnageant. Puis, le culot a été lavé avec 400  $\mu$ l d'éthanol à 70 %. Après séchage du culot à température ambiante, il a été repris dans 50  $\mu$ l d'une solution Tris 10 mM + EDTA 1 mM.

#### - Vigne

Pour chaque feuille, 1 g de nervures a été broyé dans 10 ml de solution tampon (CTAB 3 % + NaCl 1,4 M + Tris HCl 1 M pH 8+ EDTA 20 mM ; pH 7,6) à laquelle a été ajouté du

mercaptoéthanol 0,2 % (masse.vol<sup>-1</sup>). Un volume de 700 µl de broyat a ensuite été prélevé, puis déposé dans un tube Eppendorf de 2 ml et mis à incuber 20 min à 65 °C. Après ajout de 1 ml de chloroforme et agitation, les tubes ont été centrifugés 10 min à 15 000 tours.min<sup>-1</sup>. La phase aqueuse a été prélevée et déposée dans un nouveau tube Eppendorf de 2 ml avant l'ajout d'un volume équivalent d'isopropanol. Le tube a ensuite été agité manuellement, puis laissé au repos 5 min. Après 10 min de centrifugation à 15 000 tours.min<sup>-1</sup>, le surnageant a été éliminé et le culot lavé avec 1 ml d'éthanol à 70 %. Le culot a été mis à sécher à température ambiante et ensuite repris dans 150 µl d'une solution Tris 10 mM + EDTA 1 mM.

### b) Amplification de L'ADN

Dans chaque puits d'une microplaque PCR ont été versés 19 µl de "mix 1" (Tab. 15) puis 1 µl d'ADN en solution. L'ADN a ensuite été amplifié dans un thermocycleur en effectuant 30 fois le cycle de PCR suivant : 40 s de dénaturation à 92 °C, puis 40 s d'hybridation à 55 °C, suivi de 70 s d'élongation à 72 °C. Le produit de PCR a ensuite été dilué au 1/100 puis centrifugé. Une nouvelle amplification a ensuite été réalisée avec le "mix 2" (Tab. 15) et 35 cycles de PCR.

**Tableau 15.** Composition du mélange de réactifs de PCR ("mix").

Composition du "mix"		Composition du tampon pH(25 °C) = 9	
	Vol (ml)		Concentration
Eau milliQ	9,4	TRIS HCl	100 mM
Amorces F <sub>1</sub> R <sub>1</sub> ("mix 1") ou F3b/R2 ("mix 2")	3 + 3	MgCl <sub>2</sub>	15 mM
dNTPs	1,2	KCl	500 mM
T 10X (tampon)	2	Triton X-100	1%
MgCl <sub>2</sub>	0,2	Albumine sérique bovine	2 mg.ml <sup>-1</sup>
Taq polymérase	0,2		

### c) Electrophorèse

La migration s'est déroulée dans un gel composé de tampon Tris/Acétate/EDTA 1X (TAE 1X) et d'agarose 1,2 % immergé dans du TAE 1X. De 5 à 7 µl de chaque amplifiat a été mélangé à 1,5 - 2 µl de bleu de bromophénol, puis 7,5 µl de ce mélange a été inséré dans les puits correspondant. Un témoin négatif ne contenant que de l'eau milliQ mais ayant subi les mêmes traitements que les échantillons d'ADN depuis l'amplification nous a permis de nous assurer de l'absence de contamination. Les bandes de migrations ont été comparées à celle d'un puits contenant 5 µl de marqueur de taille (1 kb plus DNA ladder). Après une migration à 100 V, le gel a été immergé dans une solution de bromure d'éthidium (BET) à 10 mg.ml<sup>-1</sup>

pendant une dizaine de minutes, puis dans de l'eau milliQ afin d'éliminer le surplus de BET et enfin révélé sur une table à UV.

### 7. Essais de diminution de l'attractivité de la plante hôte

Afin d'étudier la possible utilisation de différentes substances en tant qu'anti-appétants, des cicadelles de stade larvaire 1 à 3 ont été soumises à des tests de choix entre des boutures de Cabernet Sauvignon de stade 10-15 feuilles traitées et non traitées selon le même protocole que décrit dans le paragraphe "Influences des caractéristiques de la plante hôte" (p. 121), à la différence que la durée des tests était de 24 h.

**Tableau 16.** Caractéristiques des substances testées.

Matière active	Nom du produit	Fournisseur	Doses utilisées
		Tessengerlo	
Argile kaolinite	Surround WP	Kerley, Phoenix, USA	50 g.l <sup>-1</sup>
20-hydroxyecdysone	20-hydroxyecdysone 95 %	Scitech, Prague, République Tchèque	10 <sup>-4</sup> M 10 <sup>-3</sup> M
Huile de neem	NeemAzal 1 %	Trifolio-M, Lahnau, Allemagne	0,5 % 1 %
Anthocyanes + polyphénols (pH basique)	exGrape	Grap'Sud,	0,25 g.l <sup>-1</sup>
	Anthocyanins	Cruviers	0,50 g.l <sup>-1</sup>
Anthocyanes + polyphénols (pH acide)	(ACYS)	Lascours, France	0,25 g.l <sup>-1</sup> 0,50 g.l <sup>-1</sup>

Différentes substances, mises en solution dans de l'eau ultrapure (Qualité HPLC), ont été testées (Tab. 16) :

- l'argile kaolinite qui est une poudre minérale homologuée en France contre le psylle du poirier (E-phy 2010). Elle est utilisée en agriculture biologique contre de nombreux ravageurs



et sur de nombreuses cultures, dont la vigne, au Canada (Duval & Weill 2007). Dans notre expérience, elle a été utilisée à la dose homologuée en France sur Poirier.

- l'huile de neem produite par extraction des graines du neem, *Azadirachta indica* (Magnoliopsida, Meliaceae). L'azadirachtine, un nortriterpénoïde analogue d'ecdystéroïdes, est le composé de cette huile ayant la plus grande efficacité contre les insectes. Des produits dérivés sont utilisés dans certains pays en lutte biotechnique et en agriculture biologique, en Californie par exemple (Isman 2006). L'huile de neem a été utilisée à la dose recommandée par le fabricant et à une dose doublée.

- la 20-hydroxyecdysone (20 E) est un phytoecdystéroïde produit par de nombreuses espèces de plantes (5 à 6 % des espèces) et auquel a été attribué un rôle de défense contre de nombreux insectes (Dinan 1998). La 20 E a été utilisée à une concentration de  $10^{-4}$  M qui est la concentration optimale d'inhibition de la ponte chez *L. botrana* (Calas *et al.* 2006) et une concentration dix fois plus élevée ( $10^{-3}$  M).

- l'exGrape Anthocyanins (ACYS) qui est une poudre d'anthocyanes et de polyphénols extraits de raisins rouges. Ce produit est actuellement utilisé comme complément alimentaire pour sa composition en antioxydants et antiradicaux libres mais un projet de recherche (ANR Blanc ECOPHYTO) a pour but de l'utiliser comme photoprotectant des molécules actives de produits phytosanitaires, particulièrement en vigne. La couleur du produit en solution changeant avec le pH, il a été réalisé une solution acide (rouge) et une solution basique (verte). Lorsque la poudre est diluée dans l'eau, la solution obtenue est naturellement acide avec un pH proche de 4. Afin d'obtenir une deuxième solution basique, de la soude 1 N a été rajoutée au mélange pour atteindre un pH de 9. Pour la réalisation de ces solutions, un surfactant (Tween 80 ; ICI Americas, Marlborough, USA) à la concentration de 0,1 % a été ajouté afin d'obtenir une meilleure application. La concentration préconisée par l'équipe mettant au point son utilisation comme photoprotectant est de trois fois la concentration de la matière active.

La concentration recommandée a été calculée avec la formule suivante :

$[ACYS] = [matière\ active] \text{ dans la solution mère} \times \text{dose d'emploi} / \text{volume de solution pulvérisé} \times 3$

Le calcul de la concentration s'est basé sur la concentration de la matière active (Lambda cyhalothrine) dans l'insecticide le plus utilisé contre *S. titanus* en France, le Karaté avec

technologie Zeon (Syngenta Agro S.A.S., Guyancourt, France) qui est de  $100 \text{ g.l}^{-1}$ . La dose d'emploi est de  $0,125 \text{ l.ha}^{-1}$  (E-phy 2010) et le volume pulvérisé est de  $150 \text{ l ha}^{-1}$  (pulvérisation pneumatique). On a donc une concentration d'ACYS de :

$$[\text{ACYS}] = 100 \text{ g.l}^{-1} \times 0,125 \text{ l.ha}^{-1} / 150 \text{ l.ha}^{-1} \times 3 = 0,25 \text{ g.l}^{-1}$$

La concentration recommandée ( $0,25 \text{ g.l}^{-1}$ ) et une concentration doublée ont été utilisées ( $0,50 \text{ g.l}^{-1}$ ).

Les traitements ont consisté à pulvériser 15 ml de solution sur les faces supérieures et inférieures des feuilles de chaque bouture grâce à un pulvérisateur EcoSpray (L.C.F., Meyreuil, France). Les plantes témoins utilisées dans le cadre du test d'anti-appétence du Surround WP, du NeemAzal 1 % et de la 20 E ont été vaporisées de 15 ml d'eau ultrapure. Celles ayant servi pour le test d'anti-appétence des solutions ACYS acide et basique ont été vaporisées de 15 ml d'un mélange "eau ultrapure + Tween 80 à 0,1 %" tamponné au même pH. Après un temps de séchage d'environ deux heures à température ambiante, les boutures ont été utilisées.

## 8. Statistiques

Les expériences d'olfactométrie en T et à quatre voies n'ont pas généré de résultats probants. Ceux obtenus grâce à l'olfactomètre sans flux d'air ont été traités avec le test de Wilcoxon pour échantillons appariés. Le test U de Mann-Whitney a été utilisé pour les expériences sur l'effet fixateur de l'odeur. Concernant l'expérimentation utilisant l'olfactomètre linéaire, les résultats (en %) ont été comparés à une distribution théorique où chaque catégorie a la même probabilité d'être choisie à l'aide du test du  $\chi^2$ .

Les tests d'attractivité des stimuli visuels produisent des données binomiales. En conséquence, l'existence de différences significatives a été vérifiée en utilisant un test de Mc Nemar tandis que pour les choix entre couleurs, un test Q de Cochran a été réalisé. Afin de déterminer une hiérarchisation de l'attractivité des couleurs, des comparaisons deux à deux ont été faites avec un test de Wilcoxon après une correction de Bonferroni.

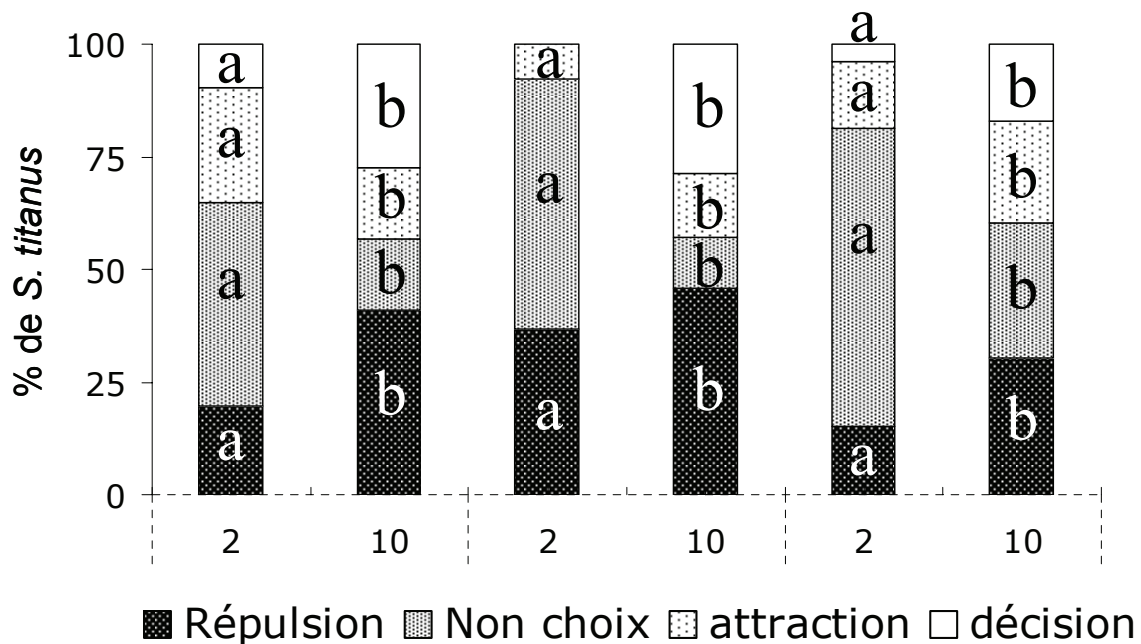
Les différences entre les tests de choix ont été évaluées grâce au test de Wilcoxon pour échantillons appariés.

L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel de statistique R 2.8.1. (R Development Core Team 2007).

## C. Résultats

### 1. Attraction olfactive vers la plante

Les expériences utilisant les olfactomètres à quatre voies et en T n'ont pas permis de dégager de résultats probants, et cela pour les différentes vitesses de flux d'air utilisées. Dans le premier dispositif, aucun des individus testés n'a quitté la zone centrale de l'olfactomètre par où l'air est aspiré. Dans le deuxième, tous les individus observés sont restés à la base du T par lequel l'air est aspiré. Il semble donc évident que les flux d'air induisent une perturbation du déplacement des insectes qui rend ce type d'approche inopérant.



**Figure 42.** Pourcentage de *S. titanus* présent dans chaque zone de l'olfactomètre linéaire 2 et 10 min après leur introduction. Des lettres différentes indiquent des différences significatives de choix entre 2 et 10 min au test du  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ).

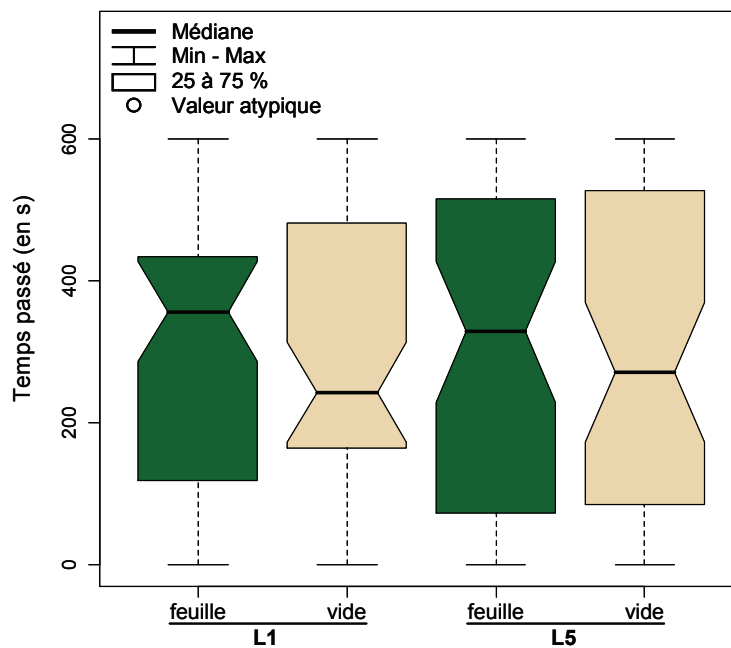
C'est pour pallier à ce manque de locomotion que nous avons utilisé un olfactomètre linéaire de grandes dimensions. La répartition des cicadelles à l'intérieur de l'olfactomètre linéaire à 2 et 10 min est significativement différente pour tous les stades (L1 :  $\chi^2 = 49,35$  ; L5 :  $\chi^2 = 83,3$  ; adultes :  $\chi^2 = 33,34$  ;  $p < 0,01$ ) et il n'y a pas de différences significatives entre les trois stades de développement ( $\chi^2 = 2,2$  ;  $p > 0,05$ ) (Fig. 42).

De manière générale, le nombre de cicadelles dans la zone de non choix diminue, tandis que celui de la zone de décision augmente et l'on retrouve plus de cicadelles dans la zone de répulsion à 10 qu'à 2 min. Le nombre de cicadelles dans la zone d'attraction augmente pour les L1, stagne pour les L5, et diminue pour les adultes. Les cicadelles ont donc tendance à fuir la zone centrale de l'olfactomètre pour l'une de ses extrémités, de préférence la zone de

répulsion qui regroupe de 30,2 % (adultes) à 45,7 % (L5) de l'effectif. Cette expérimentation semble mettre en évidence un anémotactisme négatif chez cet insecte.

Parmi les cicadelles manifestant un choix, aucune attraction (ou répulsion) des odeurs de vigne n'a été observée (L1:  $\chi^2 = 1,4$  ; L5 et adultes:  $\chi^2 = 6,75$  ;  $p > 0,05$ ).

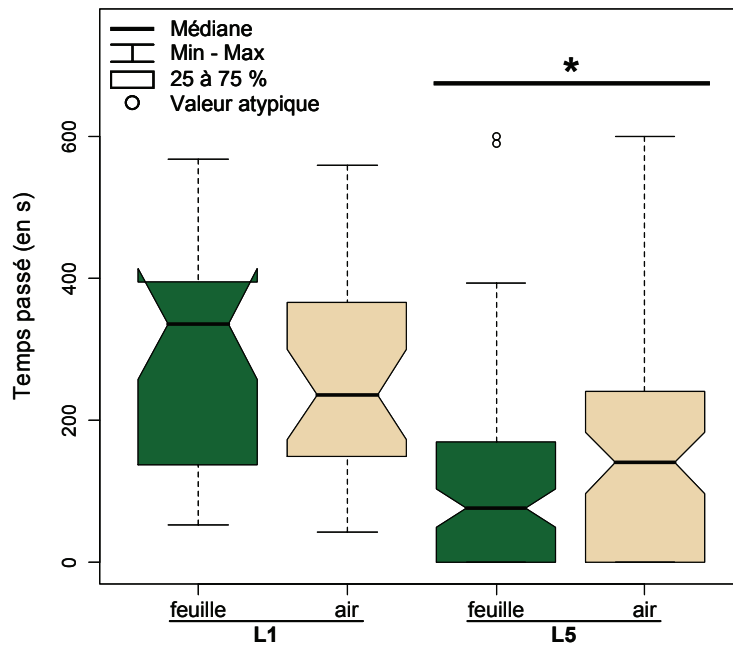
Dans l'olfactomètre sans flux d'air, les L1 et les L5 n'ont pas passé plus de temps au-dessus de la moitié contenant une feuille qu'au-dessus celle n'en contenant pas (respectivement,  $W = 650$  et  $642,5$  ;  $p > 0,05$ ) (Fig. 43).



**Figure 43.** Temps passé par les larves de 1<sup>er</sup> (L1) et 5<sup>ème</sup> stade (L5) sur chaque moitié de l'olfactomètre sans flux d'air.

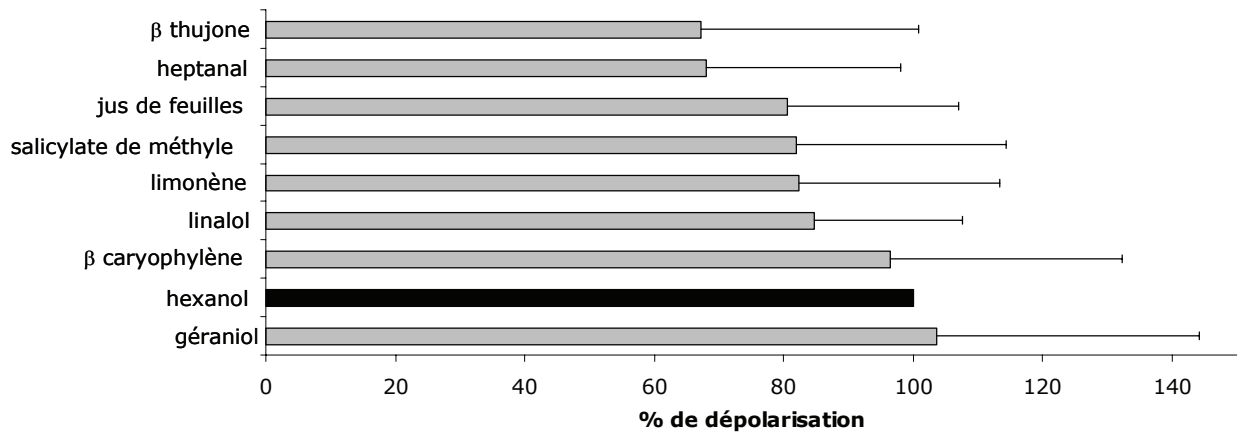
## 2. Effet fixateur des odeurs de la plante hôte

Si les larves de premier stade passent en moyenne autant de temps sur le papier vert en présence et en absence de l'odeur d'une feuille de vigne ( $Z = 432$  ;  $p > 0,05$ ), les L5, en revanche, passent moins de temps sur le papier quand l'odeur de feuille est présente ( $Z = 3070,5$  ;  $p < 0,05$ ) (Fig. 44).



**Figure 44.** Temps passé par les larves de 1<sup>er</sup> (L1) et 5<sup>ème</sup> stade (L5) sur un carré de papier vert en présence ou non d'une feuille de vigne. \* :  $p < 0,05$  (test U Mann-Whitney).

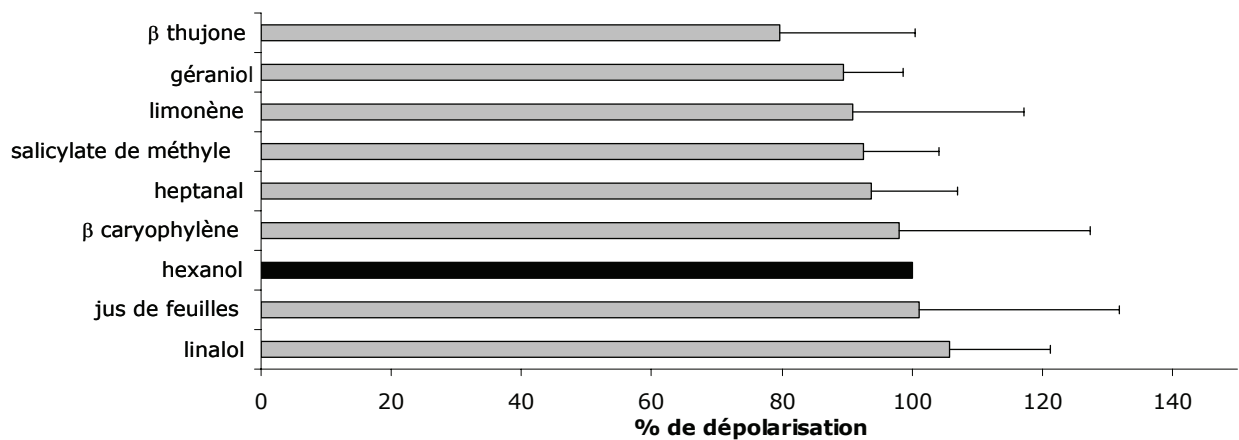
### 3. Mesure de la sensibilité olfactive des antennes



**Figure 45.** Pourcentages moyens relatifs et écarts types de dépolarisation d'antennes de femelles adultes. L'hexanol sert de témoin.

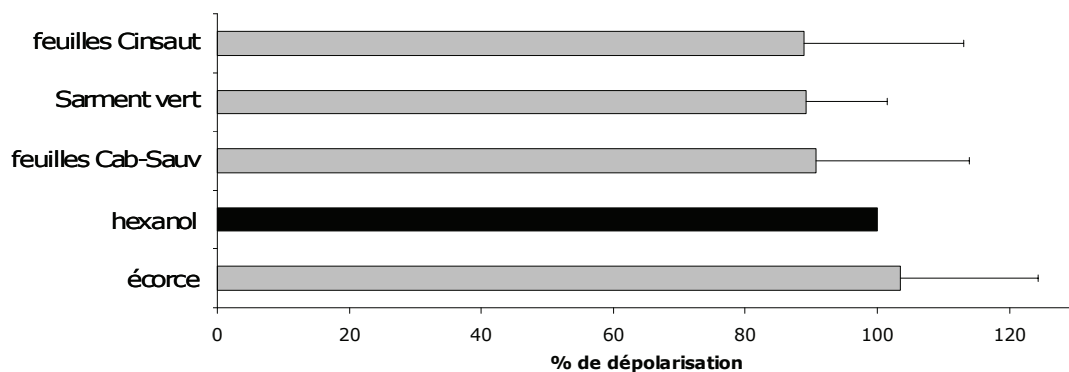
Les antennes de cicadelles sont très sensibles à l'air. L'envoi d'air seul sur l'antenne entraîne une forte dépolarisation. La dépolarisation moyenne observée sur une série de 15 pulsations d'air est trois fois plus grande chez les femelles ( $N = 10$  ;  $m = 6,22$  ;  $\sigma = 1,09$ ) que chez les mâles ( $N = 9$  ;  $m = 2,72$  ;  $\sigma = 1,69$ ). De plus, cette sensibilité au flux d'air augmente très rapidement au cours de l'expérimentation. Cette grande sensibilité des antennes aux mouvements d'air rend difficile l'obtention et l'interprétation des résultats.

Tous les produits testés n'entraînent pas tous la même intensité de dépolarisation. Le  $\beta$ -thujone induit les plus faibles dépolarisations (Fig. 45 & 46). Le limonène, le méthyl salicylate et le  $\beta$ -caryophyllène entraînent aussi des dépolarisations inférieures à celles provoquées par l'hexanol. Les deux sexes n'ont pas la même sensibilité pour tous les produits testés. Par exemple, si le jus de feuilles entraîne une dépolarisation inférieure de 20 % à celle de l'hexanol chez les femelles, elle est supérieure chez les mâles, tout comme le linalol. Chez les femelles, seul le géraniol induit une dépolarisation plus importante à celle de l'hexanol. L'acide jasmonique entraîne systématiquement une hyperpolarisation et n'est donc pas représenté sur les figures.

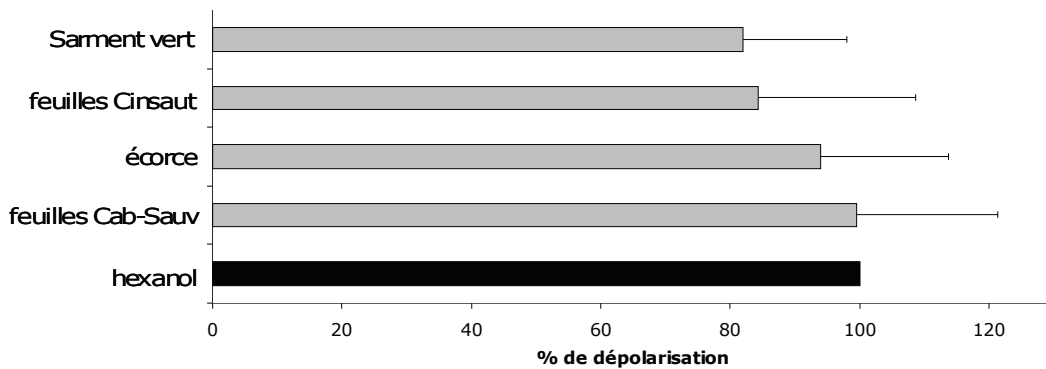


**Figure 46.** Pourcentages moyens relatifs et écarts types de dépolarisation d'antennes de mâles adultes. L'hexanol sert de témoin.

En ce qui concerne les odeurs des différents organes de la plante hôte, seule l'écorce, chez les femelles, induit une réponse de plus grande intensité que l'hexanol (Fig. 47 & 48).



**Figure 47.** Pourcentages moyens relatifs et écarts types de dépolarisation d'antennes de femelles adultes. L'hexanol sert de témoin.



**Figure 48.** Pourcentages moyens relatifs de dépolarisation et écarts types d'antennes de mâles adultes. L'hexanol sert de témoin.

Cette grande sensibilité des antennes aux mouvements d'air rend difficile l'obtention et l'interprétation de résultats mais est cohérente avec les observations faites en olfactométrie. Les différences de réponses aux molécules traduisent toutefois l'existence de récepteurs aux odeurs fonctionnels. En revanche, l'hypersensibilité aux flux d'air ne permet pas de pouvoir réaliser des études fines sur la sensibilité des antennes à telle ou telle molécule, ou d'observer des effets dose-réponse. Pour cela, il faudrait donc s'affranchir de l'activité électrique des mécanorécepteurs en utilisant par exemple la technique de single cell recording.

#### 4. Attractivité de stimuli visuels

**Tableau 17.** Pourcentages du choix de larves de premier stade de *S. titanus*. Des lettres différentes indiquent des différences significatives de choix différents à  $p < 0,05$ .

	N	%	Q	p
<b>Individus testés</b>	129			
<b>Aucun choix</b>	16	12,40		
<b>Choix réalisé</b>	113	87,60		
<b>Choix de couleur</b>				
<b>Jaune</b>	64	56,64	a	
<b>Vert</b>	34	30,09	b	
<b>Bleu</b>	11	9,73	c	77,761 <0.001
<b>Rouge</b>	4	3,54	c	
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b><math>\chi^2</math></b>	<b>p</b>
<b>Individus testés</b>	141			
<b>Aucun choix</b>	17	12,06		
<b>Choix réalisé</b>	124	87,94		
<b>Lignes parallèles</b>	63	50,81		
<b>Ramifications</b>	61	49,19	0,008	> 0.5

Les cicadelles sont davantage attirées par la couleur jaune, puis par le vert et enfin choisissent indistinctement le bleu et le rouge (Tab. 17). Les larves de *S. titanus* ne montrent

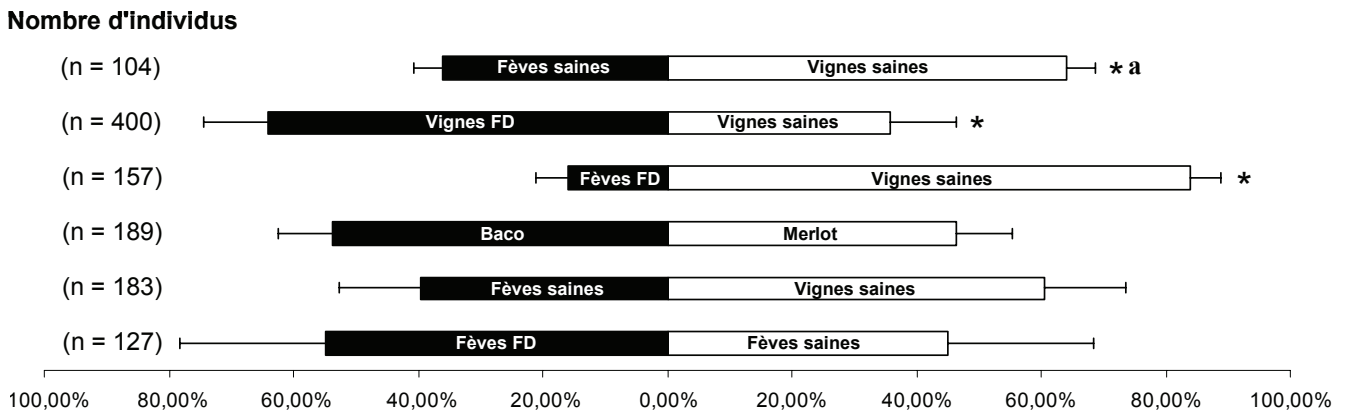


en revanche pas de préférence de choix entre une structure ramifiée et des lignes parallèles (Tab. 17).

## 5. Influences des caractéristiques de la plante hôte

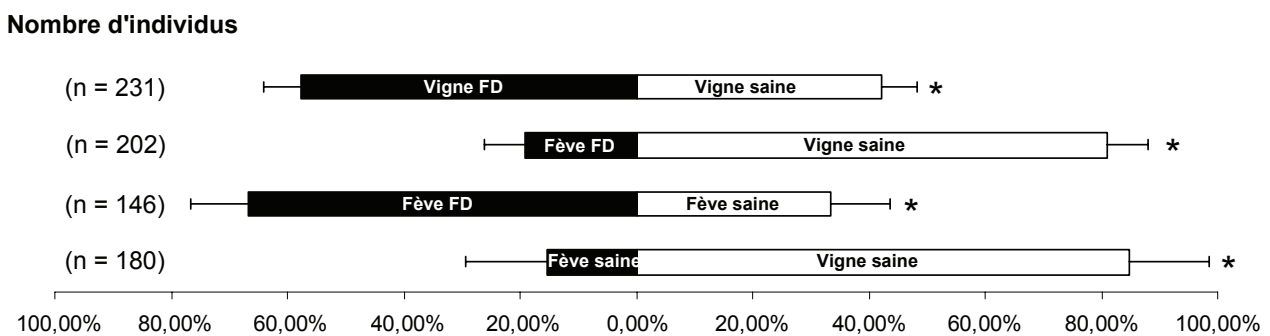
### a) Préférences entre plantes saines

Les larves n'ont pas manifesté de préférence entre la fève et la vigne ( $Z = 1,57$  ;  $p > 0,05$  ; Fig. 49). Mais après une expérience de 15 jours sur des fèves, les larves ont eu le même comportement que les adultes et ont choisi préférentiellement leur plante hôte naturelle, la vigne (pour les deux,  $Z = 2,20$  ;  $p < 0,05$  ; Fig. 49 & 50). Les larves de *S. titanus* n'ont pas été plus attirées par le cépage le plus sensible à la FD (Baco 22 A) que par le cépage résistant (Merlot) ( $Z = 0,84$  ;  $p > 0,05$  ; Fig. 49).



**Figure 49.** Résultats des tests de choix des larves. \* :  $p < 0,05$  ; a : larves ayant eu une expérience de 15 jours sur des fèves auparavant.

### b) Préférences entre plantes saines et atteintes de FD



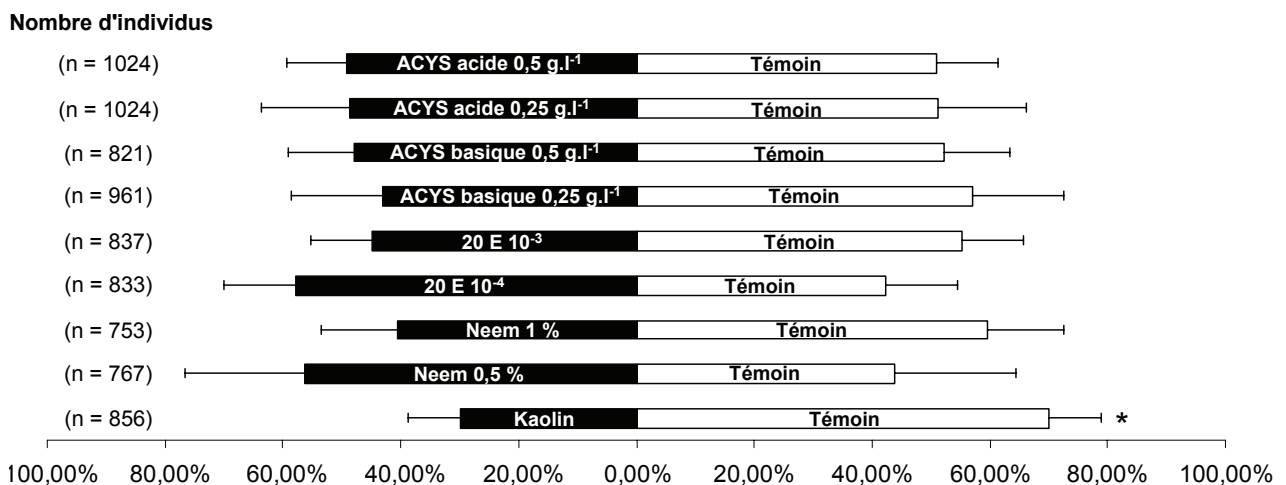
**Figure 50.** Résultats des tests de choix des adultes. \* :  $p < 0,05$ .

La présence de phytoplasmes de la FD a rendu les plantes, la vigne et la fève, plus attractives pour les adultes (respectivement  $Z = 2,02$  et  $Z = 1,99$  ;  $p < 0,05$  ; Fig. 50). La FD n'a pas exactement eu le même effet sur les larves. Si les boutures de vignes atteintes de FD ont été plus attractives que les boutures saines ( $Z = 2,20$  ;  $p < 0,05$ ; Fig. 49), les fèves malades et saines n'ont pas montré de différence significative d'attractivité ( $Z = 0,10$  ;  $p > 0,05$  ; Fig. 49).

L'effet "état sanitaire" et "espèce" n'a pas la même importance puisque la vigne saine a été préférée à la fève malade aussi bien par les larves que par les adultes (pour les deux,  $Z = 2,20$  ;  $p < 0,05$  ; Fig. 49 & 50). De plus, les préférences qu'ont montré les cicadelles sont dépendantes du stade de développement de l'insecte.

### 6. Essais de diminution de l'attractivité de la plante hôte

La répartition des cicadelles entre boutures de vignes témoins et traitées n'a pas été affectée par les traitements réalisés avec de l'huile de neem 0,5 et 1 % (respectivement  $W = 35$  et  $8,5$  ;  $p > 0,05$ ), de la  $20 E 10^{-4}$  et  $10^{-3} M$  (respectivement  $W = 45$  et  $12,5$  ;  $p > 5 \%$ ) et les solutions ACYS à  $0,25$  et  $0,5 \text{ g.l}^{-1}$  à pH acide (respectivement  $W = 23$  et  $22,5$  ;  $p > 5 \%$ ) et basique (respectivement  $W = 15$  et  $20,5$  ;  $p > 0,05$ ) (Fig. 51). Ces substances n'ont donc pas modifié l'appétence des plantes pour les larves de *S. titanus*. En revanche, le nombre de cicadelles sur les boutures de vigne traitées avec le kaolin est significativement inférieur à celui des boutures témoins ( $W = 1$  ;  $p < 0,01$ ) (Fig. 51).



**Figure 51.** Résultats des tests d'anti appétence. \* :  $p < 0,05$ .

## D. Discussion

### 1. *S. titanus* est très sensible aux flux d'air et l'olfaction ne doit pas avoir un grand rôle dans l'attraction à distance

Les connaissances relatives à l'importance des molécules volatiles dans la recherche de la plante hôte n'est pas la même dans les deux anciens sous-ordres d'Homoptères : les Sternorrhyncha et les Auchenorrhyncha. Parmi les Sternorrhyncha, l'olfaction des pucerons a été l'objet de plus d'investigations (Powell *et al.* 2006) que celle des Auchenorrhyncha (Todd *et al.* 1990b). De plus, les récepteurs olfactifs des Auchenorrhyncha n'ont été que peu étudiés et seulement quelques espèces de cicadelles ont montré que l'olfaction avait un rôle dans la sélection de la plante hôte (Saxena & Saxena 1974; Bullas-Appleton *et al.* 2004; Patt & Setamou 2007)

L'absence de mouvement en olfactomètre en T ou à quatre voies, associée à la répulsion observée dans l'olfactomètre linéaire et à la très grande sensibilité des antennes aux flux d'air démontrent une forte réponse anémotactique négative des larves et adultes. Cela permet de douter de l'efficacité de tests olfactométriques basés sur un flux d'air, et rend très certainement problématique l'orientation olfactive à distance. La grande sensibilité des mécanorécepteurs n'implique pas que *S. titanus* soit insensible aux odeurs et qu'elles n'induisent pas de réponses comportementales. On peut par exemple supposer qu'à l'abri du feuillage, une orientation dans des gradients d'odeurs soit possible. Les résultats en EAG montrent en effet l'existence de récepteurs fonctionnels, même si leur activité est difficile à mesurer. En revanche, nos résultats semblent soutenir l'hypothèse d'une non influence de l'olfaction dans l'attractivité de la plante hôte à distance.

Les résultats obtenus en EAG permettent de savoir que les cicadelles perçoivent des molécules associées aux odeurs de plante sans savoir comment est traitée cette information au niveau du système nerveux central. En effet, le signal produit par l'excitation d'un récepteur par une molécule subit une intégration dans différentes structures de celui-ci, dont les lobes antennaires, et c'est le résultat du traitement de ce signal qui produira une réponse comportementale ou non, ainsi que le type de réponse (Mustaparta 2002; Masse *et al.* 2009). On peut donc supposer que la perception des molécules n'induit pas une orientation de l'insecte vers la source d'odeur, ou que le comportement observé résulte de l'intégration d'une stimulation attractive (l'odeur de plante) et d'une stimulation répulsive (le flux d'air) et que cette dernière supprime la réponse provoquée par la première (Han *et al.* 2005). Ainsi, sans stimulation olfactive, les adultes de *Meligethes aeneus* (Coleoptera, Nitidulidae) volent sous le sens du vent ou avec un vent de travers alors qu'en présence d'odeur de colza, l'insecte manifeste un anémotactisme positif, remontant le flux d'air en direction de la source d'odeur

(Evans & Allen-Williams 1994). Le sens de l'anémotactisme peut aussi varier en fonction de la physiologie de l'insecte et passer de négatif au moment de la recherche d'un site de diapause, à positif à l'émergence lors de la recherche de sa plante hôte (Williams *et al.* 2007).

L'anémotactisme négatif des adultes de *S. titanus* peut être lié à leur petite taille puisque plus un insecte est petit et plus il va lui être difficile de contrôler sa direction de vol. Les adultes n'ont donc aucun intérêt à essayer de voler contre le vent, d'autant plus que voler sous le vent nécessite moins d'énergie et peut permettre de se déplacer sur de plus longues distances et donc de se disperser sur des surfaces plus importantes (Evans & Allen-Williams 1994). Une telle stratégie peut d'ailleurs se révéler payante dans des systèmes de 'monocultures vastes' comme la vigne, mais à contrario beaucoup plus risquée dans un environnement morcelé. Pour se déplacer sur de courtes distances et atteindre des objectifs particuliers, les petits "voiliers" tels que *S. titanus* ont intérêt à posséder des mécanorécepteurs sensibles aux flux d'air pour éviter de voler lorsque la force du vent est supérieure à leur vitesse propre ou demanderait trop d'énergie pour lutter contre.

Cet anémotactisme négatif n'est pas incompatible avec un rôle des odeurs à très courte distance par l'intermédiaire de gradients de diffusion. Nos résultats d'électroantennographie vont dans ce sens en montrant outre la très forte réponse des mécanorécepteurs, la présence de récepteurs olfactifs fonctionnels sensibles aux odeurs de plantes. La présence de récepteurs aux odeurs végétales corrobore des résultats similaires obtenus chez la cicadelle *Empoasca devastans* qui est capable de détecter le camphène et l' $\alpha$ -pinène, deux composés produits par sa plante hôte (le coton), mais qui n'interviennent pas dans l'attraction à distance (Saxena & Saxena 1974). Plus récemment, Ranger *et al.* (2005) ont montré que la cicadelle *Empoasca fabae* est capable de percevoir les odeurs de la luzerne, *Medicago sativa*, et que celles-ci permettent de "fixer" l'insecte sur un substrat inerte. De plus, la composition du mélange d'odeur produit par les feuilles de luzerne pourrait expliquer la résistance de certains génotypes dont les concentrations de certaines molécules n'induiraient pas cette "fixation" (Ranger *et al.* 2005). Les composés volatils émis par la vigne pourraient avoir le même rôle fixateur sur *S. titanus* (Miller *et al.* 2009). En effet, dans l'expérience en olfactométrie sans flux, les L5 ont passé moins de temps sur le papier vert en présence de l'odeur de vigne, signe que l'odeur de la plante a une influence sur le comportement du dernier stade larvaire. L'interprétation de ce résultat est difficile mais on peut émettre l'hypothèse que l'odeur de la plante ne passant pas à travers le papier, elle augmente le comportement de recherche du site de piqûre. Cette observation est cohérente avec celles faites sur d'autres espèces de cicadelles montrant que leurs comportements peuvent être modulés par les odeurs libérées par leur plante hôte. Ainsi, la présence d'odeur de feuilles de coton a un effet phagostimulant sur *E.*

*devastans* qui absorbe un volume de solution de saccharose une fois et demi plus important qu'en absence de feuilles ou qu'en présence de feuilles de ricin (Saxena & Saxena 1974). Les odeurs de plante hôte peuvent aussi agir en synergie avec les stimuli visuels. Ainsi, les mâles et femelles de la cicadelle *Dalbulus maidis*, spécialiste du maïs, passent plus de temps au contact d'un carré de lumière verte en présence d'odeur de maïs, alors qu'il n'y a pas de différence avec ou sans odeurs en présence d'une lumière blanche (Todd 1990b).

Les résultats présentés dans ce mémoire sont contradictoires d'avec l'étude publiée par Mazzoni *et al.* (2009a). Les travaux rapportés dans cette publication ne rapportent aucun anémotactisme négatif des larves de *S. titanus* qui choisissent préférentiellement le bras de l'olfactomètre connecté à la bouteille en verre contenant les organes de *Vitis riparia* x *rupestris*. Un dispositif destiné à dissocier l'attraction visuelle de l'attraction olfactive a consisté à enfermer les fragments de plantes dans un sac en plastique étanche avant de les mettre en bouteille. Si ce dispositif peut permettre de stopper la propagation des odeurs, il peut également perturber la vision de l'insecte. En effet, l'ajout d'une surface en plastique peut modifier la réflexion des rayons lumineux et donc la perception de l'insecte (Prokopy & Owens 1983). Il est donc difficile de distinguer l'olfaction de la vision. Il semblerait, comme les auteurs le mentionnent, que les odeurs aient un rôle fixateur en maintenant l'insecte sur sa plante hôte.

## **2. La couleur est probablement impliquée dans l'attraction à distance**

Les Homoptères peuvent percevoir les longueurs d'onde de 350 à 660 nm, avec un optimum à 550 nm, ce qui correspond au pic du facteur de réflexion-transmission (Prokopy & Owens 1983). *S. titanus* peut donc discriminer et montrer des préférences pour certaines couleurs. Ainsi, comme un grand nombre d'insectes phytophages et en particulier les piqueurs-suceurs, les L1 ont montré une forte attraction pour le jaune (Saxena *et al.* 1974; Prokopy & Owens 1983; Todd *et al.* 1990a). Plusieurs hypothèses explicatives ont été avancées. Il semblerait que la couleur jaune soit associée aux jeunes feuilles en développement, plus riches en azote (Mooney & Gulmon 1982). La couleur jaune pourrait donc être un indice de la qualité de la plante, puisque la teneur en azote est un critère de choix de la plante hôte. En effet, plus sa teneur dans la plante est élevée, meilleure est la fitness des cicadelles s'alimentant dessus (Rossi & Strong 1991). Cependant, la grande variété d'insectes phytophages connus pour répondre positivement au jaune laisse penser que, pour beaucoup, le

jaune constituerait un stimulus "super normal"<sup>1</sup> (Prokopy & Owens 1983). La couleur verte exerce une attraction sur *S. titanus* plus faible, mais quand même relativement importante. Ces deux couleurs, en particulier la seconde, sont celles les plus présentes chez la vigne. Chez les adultes, Lessio & Alma (2004a) rapportent que dans les mouvements intra vignoble, le plus grand nombre de mâles est retrouvé sur des pièges englués rouges, puis dans les mêmes proportions sur des blancs et des jaunes. Une telle différence d'attractivité des couleurs est beaucoup moins évidente chez les femelles. Les résultats différents obtenus dans l'étude de Lessio & Alma (2004a) et durant ma thèse peuvent avoir plusieurs explications. D'abord, nous n'avons pas utilisé le même dispositif expérimental. Ensuite, l'activité de vol étant majoritairement crépusculaire, la majorité des individus dénombrés sur les pièges se sont fait prendre lorsque la luminosité était faible (Prokopy & Owens 1983). Les différences de luminosité entre leur étude et nos conditions de pleine lumière induisent une perception des couleurs différentes (Kral & Stelzl 1998). On sait que la cicadelle *Dalbulus maidis* présente une réponse aux stimuli visuels dépendante de la longueur d'onde : l'orientation vers sa plante hôte est stimulée par de grandes longueurs d'ondes et inhibée par des faibles longueurs alors que pour le vol de dispersion, le phénomène est inversé (Todd *et al.* 1990c). Si un tel système existe chez *S. titanus*, les sensibilités différentes des larves et adultes aux longueurs d'onde pourraient être expliquées par le fait que le comportement des larves et celui des adultes n'ont pas la même finalité, le but premier des larves est de s'alimenter, alors que celui des adultes est de se reproduire. On peut également supposer que la maturation du système nerveux conduise à une différence de perception et/ou d'attraction pour les couleurs testées.

Outre sa couleur, l'architecture du végétal semble aussi avoir une grande importance dans l'attraction à distance des phytophages, en particulier pour les spécialistes. Par exemple, *Chorthippus binotatus binotatus* (Acrididae: Gomphocerinae), qui est un spécialiste de Faboideae ligneuses, choisit préférentiellement les structures branchées à 45°, semblables à l'architecture d'*Ulex minor* (Fabacée), à d'autres structures (Picaud *et al.* 2003). En ce qui concerne *S. titanus*, nous n'observons pas de choix préférentiel entre des figures représentant une structure branchée et des lignes parallèles. Toutefois les patterns visuels proposés étant assez éloignés d'architectures réelles, il est difficile d'attribuer trop de poids à ce résultat.

---

<sup>1</sup> Stimulus "super-normal" stimulus sans fonction biologique mais provoquant une réaction intense.

### 3. L'état sanitaire de la plante hôte et le stade de développement de l'insecte sont des paramètres importants régissant les choix de *S. titanus*

Les larves naïves de *S. titanus* ne montrent pas de préférence entre la fève et la vigne alors qu'après s'être alimentées 15 jours sur fèves, une préférence nette pour la vigne est visible. Ce changement de comportement semble résulter d'une exposition préalable des larves sur fève. L'apprentissage a été très étudié chez les insectes (Papaj & Prokopy 1989; Dukas 2008; Behmer 2009) et l'on sait qu'il intervient dans la sélection de l'hôte chez les insectes phytophages, dont les vecteurs (McCall & Kelly 2002; Thiéry & Moreau 2011). La fève n'est pas la plante optimale pour le développement de *S. titanus* car elle induit en particulier une mortalité élevée (obs. pers.). On sait que les insectes phytophages peuvent réguler quantitativement et qualitativement leur ingestion en nutriments en s'alimentant sur différentes plantes (Behmer 2009). On peut donc supposer qu'une alimentation prolongée sur fève ne fournisse pas la composition optimale en nutriments requis par la cicadelle et que les individus ayant passé 15 jours à s'alimenter sur la fève choisissent préférentiellement la vigne afin de réguler leurs besoins en nutriments.

Les fèves et boutures de vigne atteintes de FD voient leur feuillage jaunir et l'attractivité de ces plantes peut être liée à cette couleur jaune que l'on sait très attractive. En plus de modifier la couleur des plantes infectées, les maladies à phytoplasmes modifient leur physiologie (Christensen *et al.* 2005) et peuvent les rendre plus attractives vis à vis des insectes vecteurs. C'est le cas du phytoplasme responsable de la prolifération du pommier, '*Candidatus Phytoplasma mali*', qui induit une modification du bouquet d'odeur émis par le pommier, *Malus domestica*, particulièrement en augmentant le taux de  $\beta$ -caryophyllène (Mayer *et al.* 2008a; 2008b). Cette modification rend la plante infectée plus attractive pour le vecteur de ce phytoplasme, le psylle *Cacopsylla picta*. Outre l'attraction à distance, les agents pathogènes vectés peuvent également augmenter l'effet fixateur de la plante vis-à-vis de son vecteur (Ngumbi *et al.* 2007). Un tel phénomène pourrait se produire avec *S. titanus* puisque cet insecte semble sensible aux odeurs émises par son hôte. En modifiant la composition de la sève de la plante qu'ils colonisent, les phytoplasmes peuvent augmenter la valeur nutritive de ces plantes en induisant par exemple des concentrations en acides aminés plus importantes (Lepka *et al.* 1999). La teneur en acides aminés de la sève est un paramètre influant le choix de plante hôte. Ainsi, *Homalodisca coagulata*, un des vecteurs de la maladie de Pierce, change de plante hôte au cours de l'année en fonction de la concentration en acides aminés du xylème afin de s'alimenter sur les espèces possédant les concentrations les plus élevées (Bi *et al.* 2005).



Si la couleur de la plante semble être un élément fondamental dans le choix de la plante hôte, d'autres facteurs peuvent aussi jouer un rôle important. Ainsi, l'attractivité d'une plante atteinte de FD (plus jaune) dépend de l'espèce de l'hôte. En effet, une fève jaunissante est moins attractive qu'une bouture de vigne saine, que ce soit pour les larves ou les adultes. De plus, les fèves malades ne sont pas préférées aux non infectées par les larves. Ces résultats renforcent l'hypothèse que les phytoplasmes induisent d'autres changements que leur couleur dans la plante susceptibles de modifier le comportement du vecteur. Effectivement, les modifications d'expression des gènes, ainsi que les autres interactions induites par la présence de phytoplasmes dans une plante, varient en fonction des espèces d'hôte et d'agent pathogène (Jagoueix-Eveillard *et al.* 2001; Carginale *et al.* 2004; Hren *et al.* 2009a; 2009b). Ces interactions peuvent expliquer les différences d'attraction de *S. titanus* par les fèves et les vignes malades.

Les différences de susceptibilité à la FD des différents cépages de vigne n'ont jamais été liées à une sensibilité de la plante au phytoplasme et/ou à une attractivité du vecteur. Dans le premier cas, la susceptibilité dépendrait seulement de la physiologie des différents cépages alors que dans le second, les cépages les plus attractifs seraient les plus piqués par le vecteur ce qui augmenterait la probabilité d'être infecté par le phytoplasme et le nombre de ceps atteints de FD. Dans des parcelles plantées avec plusieurs cépages, il a été observé des densités de *S. titanus* 5 à 57 fois plus élevées sur cépage très sensible (Baco 22 A) que sur des cépages plus résistants (Villard blanc et 13 Couderc) (Schvester *et al.* 1962b). Aucune différence d'attractivité entre le cépage sensible Baco 22 A et peu sensible Merlot n'a été observée dans cette étude. La différence de sensibilité des deux cépages peut donc être due à des caractéristiques physiologiques de la plante et/ou à un effet sur le comportement alimentaire du vecteur. En effet, l'efficacité de la transmission d'un agent pathogène est influencée par le comportement alimentaire du vecteur au travers de différents paramètres tels que le nombre de piqûres, les tissus explorés par les stylets, la durée de la prise alimentaire... (Purcell 1982).

#### **4. Le kaolin, pulvérisé sur les feuilles, pourrait être un bon répulsif**

Les substances testées visaient à modifier les préférences de *S. titanus* en modifiant les signaux visuels, olfactifs et gustatifs de la vigne. Ainsi, la 20 E et l'huile de neem avaient été choisies pour leur activité anti-appétante (Isman 2006; Malausa *et al.* 2006; Copping & Duke 2007). Si la majorité des études concernant l'activité anti-appétante de l'huile de neem a été réalisé sur des insectes broyeur, certains Homoptères, dont la cicadelle *Nilaparvata lugens*,

ont montré leur sensibilité à ce produit (pour revue : Schmutterer 1990). En revanche, *S. titanus* n'a pas été affecté dans ces préférences par ces phytoecdystéroïdes. Cette insensibilité peut être la conséquence du positionnement des récepteurs gustatifs à l'intérieur des pièces buccales (Wensler & Filshie 1969; Wensler 1974; 1977; Tjallingii 1978a) et qui ne sont donc pas en contact avec les molécules présentes à la surface de la plante. Cependant, ces résultats n'excluent pas d'autres effets, notamment sur le comportement alimentaire comme il a été observés chez différents Homoptères (West & Luntz 1992; Reuter *et al.* 1993; Wen *et al.* 2009).

La solution d'anthocyanes et polyphénols (ACYS), quel que soit son pH, donc sa couleur, n'a pas eu plus d'effet. La couleur de la solution ainsi que son absorption dans le domaine UV n'a donc pas modifié la perception visuelle de la vigne. Si l'utilisation de films plastiques absorbant les UV peut permettre de perturber le comportement des insectes vecteurs et en particulier leurs déplacements (Antignus *et al.* 2001; Weintraub *et al.* 2008; Nguyen *et al.* 2009), aucune tentative d'application de substances absorbant les UV n'avait été réalisée à notre connaissance. En revanche, l'application de substances réfléchissant les UV a été utilisée, que ce soit du badigeon (chaux et hydroxyde de calcium) (Marco 1986), de l'aluminium (Smith & Webb 1969), ou du kaolin (Daniel *et al.* 2005; Marko *et al.* 2008; Garcin 2009). L'utilisation de cette dernière substance a permis de rendre la vigne moins attractive pour *S. titanus*. L'efficacité du kaolin a fait l'objet de plusieurs hypothèses. Outre la perturbation de la reconnaissance visuelle et tactile de la plante (Antignus 2000; Puterka *et al.* 2000; Wyss & Daniel 2004), les particules de kaolin en se collant au corps de l'insecte perturberait ses mouvements et son alimentation (Glenn *et al.* 1999; Cottrell *et al.* 2002; Glenn & Puterka 2005).

## 5. Apport de ces connaissances dans l'épidémiologie de la FD

La propagation rapide de la maladie, en l'absence de traitements insecticides, peut en partie être expliquée par la grande attractivité des plantes infectées, sources de pathogènes, qui a pour conséquence une grande proportion d'individus infectés dans la population de vecteurs donc d'agents capables de disséminer la maladie.

A cause des problèmes de quarantaine et de production d'insectes, il n'a pas été possible de vérifier si les insectes porteurs de phytoplasmes ont le même comportement que les vecteurs sains. En effet, les parasites détournent souvent le comportement de leurs hôtes et vecteurs à leur profit (Hurd 2003; Libersat *et al.* 2009). Dans le cas de la FD, la propagation du phytoplasme serait optimale si les vecteurs sains étaient attirés par les plantes malades afin

d'augmenter le nombre de vecteurs infectieux, et qu'ensuite ces vecteurs étaient plus attirés par les plantes saines, ce qui augmenterait le nombre de nouvelles plantes infectées.

Les différences de comportement mises en évidence entre les larves et les adultes devraient être prises en compte dans l'ajustement des différentes méthodes de lutte en fonction du stade de développement visé.

L'olfaction ne semble donc pas jouer un rôle important dans l'attraction à distance de *S. titanus*. Le suivi des populations de cet insecte s'effectue actuellement par comptage des larves sous les feuilles ou à l'aide de pièges jaunes englués. Les résultats obtenus confirment la forte attractivité de cette couleur et indiquent que cette méthode ne semble pas pouvoir être substituée par un piégeage olfactif. Le piégeage chromatique, malgré son manque de représentativité et la surreprésentation des mâles, reste à ce jour le seul outil envisageable.

S'il semble inenvisageable d'utiliser les odeurs pour attirer *S. titanus*, le potentiel rôle fixateur de celles-ci devrait être considéré. Si ce potentiel se confirmait, on pourrait envisager l'utilisation de clones de vignes produisant moins de molécules "fixantes", de répandre des molécules annulant leurs effets ou repoussantes, utiliser des molécules "fixantes" sur certaines plantes pour concentrer les populations (Arruda *et al.* 2005) et ensuite effectuer un contrôle insecticide ciblé, voire combiner ces molécules à un insecticide pour augmenter son efficacité (Pelz *et al.* 2005), ce qui pourrait contribuer à réduire les quantités d'insecticides répandus.

Une application du kaolin comme moyen de lutte alternatif en lutte intégrée pourrait être envisagée à moyen terme, et après homologation. L'utilisation d'un traitement répulsif ne peut marcher seul. En effet, si dans une parcelle toute les plantes sont traitées avec un répulsif, les insectes s'alimenteront quand même sur ces plantes car se retrouvant dans un environnement uniforme, ils n'auront pas d'autre choix que d'accepter ces plantes comme hôtes pour ne pas mourir d'inanition. Il est donc pertinent d'associer un attractif à un répulsif afin de concentrer les insectes sur des plantes ou des pièges, c'est la technique dite "push-pull" (Cook *et al.* 2007). On peut donc imaginer en vigne l'association du kaolin ("push") avec un attractif ("pull") qui pourraient être des *Vitis* américains dont l'attractivité est supérieure à la vigne (Maixner *et al.* 1993; Lessio *et al.* 2007).

# **Chapitre 3**

## **Comportement d'agrégation des larves**

## A. Introduction

La présence d'un nombre élevé de congénères sur une ressource alimentaire limitée est source de compétition intraspécifique. Cette compétition peut avoir des effets délétères sur les niveaux de populations et peut se traduire entre autres par de la mortalité, du cannibalisme, des temps de développement plus long, une taille individuelle moins importante (Claessen *et al.* 2004; Kivela & Valimaki 2008; Roberts & Kokkinn 2010). Pour éviter cela, il existe des systèmes de régulation épидéictique, par exemple des phéromones de marquage du site de ponte pour éviter aux femelles de pondre au même endroit et que leur descendance souffre de compétition (Gabel & Thiery 1992; Poirier & Borden 1995; Stelinski *et al.* 2007). Cependant, dans de nombreuses espèces animales, des individus rejoignent des congénères et constituent des groupes (Stamps 1988; Landolt 1997; Prokopy & Roitberg 2001). En effet, vivre en groupe peut offrir des avantages, par exemple en modifiant les conditions micro-environnementales (température, humidité...). Ainsi, dans des conditions de densité élevée, certaines larves de Diptères et de Lépidoptères bénéficient d'une meilleure régulation de leur température corporelle et de leur perte d'eau que les individus isolés, ce qui permet d'élever leur taux de développement (Clark & Faeth 1997; Slone & Gruner 2007). Une augmentation de la densité d'individus peut également être une stratégie d'exploitation plus efficace de la ressource alimentaire en contrecarrant les défenses de la plantes et/ou en détournant son métabolisme (Clark & Faeth 1997; Denno & Benrey 1997; Wool 2004). La constitution de groupe d'individus permet également de diminuer la pression liée à la prédation en la diluant, en la dissuadant visuellement, en adoptant un comportement de défense ou en augmentant l'efficacité des signaux d'alarme (Lockwood & Story 1986; Aldrich 1988; Gamberale & Tullberg 1998; Mondor *et al.* 2002; Despland & Simpson 2005; Buzatto *et al.* 2009; Ramaswamy & Coccoft 2009). L'agrégation peut aussi avoir un rôle dans l'accouplement en potentialisant les signaux émis par un sexe pour attirer l'autre, ou en augmentant les possibilités de rencontres lors des accouplements en constituant par exemple des zones de lek qui sont un regroupement de mâles d'une même espèce paradant dans un même lieu (Hill 1999; Field *et al.* 2002; Oberdorster & Grant 2007).

La présence de congénères peut avoir une influence sur la physiologie et/ou le comportement d'un individu (Applebaum & Heifetz 1999). L'agrégation peut alors avoir pour conséquence une accélération ou une modification des processus ontogéniques (Applebaum & Heifetz 1999; Papaj 2000). Un des exemples le plus spectaculaires est probablement les changements physiologiques et morphologiques causés par des facteurs dépendant de la densité chez les criquets migrateurs (Uvarov 1921, cité par Waloff & Popov 1990; Pener & Yerushalmi 1998; Tanaka 2006). Les conséquences les plus documentées concernent les

modifications de taux de développement ou l'induction de plasticité phénotypique. Ainsi, les larves mâles de la blatte *Diploptera punctata* se développent plus rapidement en présence d'un congénère du même sexe que seules (Holbrook & Schal 1998). Des effets similaires ont été observés dans d'autres ordres d'insectes comme les Orthoptères (Assad *et al.* 1997), les Lépidoptères (Goulson & Cory 1995), les Diptères (Saunders *et al.* 1999) ou les Hémiptères (Tsumuki *et al.* 1990). La présence de congénères peut également affecter le métabolisme des adultes et accélérer le cycle reproducteur des femelles, ainsi que la production d'œufs (Bradley 1985; Holbrook *et al.* 2000). De plus, chez certaines espèces, la fréquence des interactions entre individus peut influencer le développement des larves, et donc modifier le phénotype des adultes (Iwanaga & Tojo 1986; Niu *et al.* 2009; Mao & Henderson 2010). Réciproquement, l'isolement chez des espèces grégaires d'insectes eusociaux<sup>1</sup> ou non peut avoir des conséquences négatives (Boulay *et al.* 2000; Lihoreau *et al.* 2009). Cependant, l'agrégation peut également avoir des effets négatifs sur les individus composant le groupe comme un taux de transmission d'agents entomopathogènes plus élevé (Hochberg 1991), une plus forte attractivité vis à vis des parasitoïdes (Wertheim *et al.* 2003), ou une plus grande mortalité larvaire (Wise *et al.* 2006).

Les mécanismes intervenant dans la constitution de groupes sont différents selon les espèces. On peut distinguer deux grandes catégories d'agrégation (Parrish *et al.* 1997) :

- L'agrégation "non sociale" dans laquelle les individus sont attirés par une source donnée sans interagir socialement avec leurs congénères et qui se dispersent lorsque la source est consommée ou disparaît. Ces différences entre groupes et individus isolés sont nommées "effets de masse" (Grassé 1946, cité par Lihoreau & Rivault 2008).

- L'agrégation "sociale", au contraire, se forme et se maintient grâce à une attraction mutuelle des constituants du groupe. Dans ce cas, les différences physiologiques, morphologiques et/ou comportementales sont principalement attribuées à des interactions sociales et ont été appelées "effets de groupe" (Grassé 1946, cité par Lihoreau & Rivault 2008). Ils diffèrent des "effets de masse" car ils sont causés par la perception de stimuli provenant de congénères et peuvent se produire dès que deux individus sont en présence l'un de l'autre. Ces stimuli peuvent être de nature phéromonale, olfactive, visuelle, tactile, sonore... (Kidd 1976; Weaver *et al.* 1990; Muller 1998; Rogers *et al.* 2003; Wertheim *et al.* 2005). La communication interindividuelle est assurée par l'émission de vibrations transmises

---

<sup>1</sup> Les insectes eusociaux sont caractérisés par un chevauchement des générations d'adultes, une coopération dans les soins procurés aux larves et une division des tâches.

par le substrat chez les Auchenorrhyncha (Čokl & Virant-Doberlet 2003). Ce mode de communication peut intervenir dans les processus d'agrégation. Ainsi, lorsque les larves "pionnières" de *Calloconophora pinguis* (Hemiptera: Membracidae) localisent un site d'alimentation favorable, elles émettent des vibrations spécifiques attirant leurs congénères (Cocroft, 2005).

Quand des individus sont attirés ou repoussés de la ressource par des congénères, la distribution de la population au niveau de la ressource dévie par rapport à une répartition aléatoire (Prokopy & Roitberg 2001). C'est ce qui est observé en vignoble où les distributions des adultes (Bosco *et al.* 1997) et des larves (Lessio & Alma 2006) sont de type agrégatives. La distribution des larves peut être le résultat d'un comportement de regroupement après l'éclosion ou simplement la conséquence de pontes groupées (Altieri & Nicholls 2002; Sequeira & Moore 2003; Byers & Eason 2009) avec des larves ne s'éloignant pas ou peu du site d'éclosion. A notre connaissance, aucune étude ne s'est attachée à discerner la contribution du comportement de la larve et de celle de l'adulte dans les phénomènes d'agrégation chez *S. titanus*. Pourtant, les processus d'agrégation/dispersion des jeunes stades de développement d'insectes vecteurs ont une grande importance dans l'épidémiologie des maladies, notamment en modulant les taux d'acquisition et d'inoculation des agents pathogènes (Zhang *et al.* 2000). Si l'agrégation des individus sur le site d'alimentation peut conduire à la transmission de pathogènes entre congénères (Harrison *et al.* 2001), elle peut aussi permettre par exemple l'échange d'endosymbiontes secondaires chez les pucerons. En effet, les insectes vecteurs peuvent se transmettre des symbiontes horizontalement via l'hôte sur lequel ils s'alimentent (Oliver *et al.* 2010). Les bactéries du phloème (phytoplasmes, protéobactéries) étant très proches de certains endosymbiontes d'insectes (Hogenhout *et al.* 2008b; Salar *et al.* 2010), on peut logiquement supposer que des transferts de phytoplasmes entre des vecteurs infectieux et sains puissent avoir lieu selon le même principe. *Scaphoideus titanus* est également colonisé par un endosymbionte pouvant être acquis via l'alimentation (Crotti *et al.* 2009) et un autre morphologiquement proche de "*Candidatus* P. vitis" (Marzorati *et al.* 2006). Il est donc probable qu'un transfert de phytoplasmes puisse avoir lieu lors de l'alimentation des cicadelles sur la vigne. Cette probabilité serait accrue par l'existence d'un comportement agrégatif qui augmenterait les contacts entre individus et donc les chances de transfert.



Ce chapitre tentera d'apporter des connaissances sur le comportement d'agrégation des larves en s'attachant à répondre aux questions suivantes :

- **La distribution agrégative des larves peut-elle être la résultante d'un comportement d'agrégation propre ?**
- **L'agrégation des larves est-elle de nature "sociale" ou "non sociale" ?**
- **La communication vibratoire participe-t-elle de ces mécanismes d'agrégation ?**
- **L'agrégation des larves peut-elle permettre un transfert "horizontal" de phytoplasme entre un vecteur infectieux et un vecteur sain ?**

## B. Matériels et méthodes

Toutes les expériences présentées dans ce chapitre, exceptée celle portant sur la communication vibratoire des larves réalisée en Italie, ont utilisé des larves obtenues selon le protocole décrit dans le Chapitre 1 (p. 75).

### 1. Les larves s'agrègent-elles ?

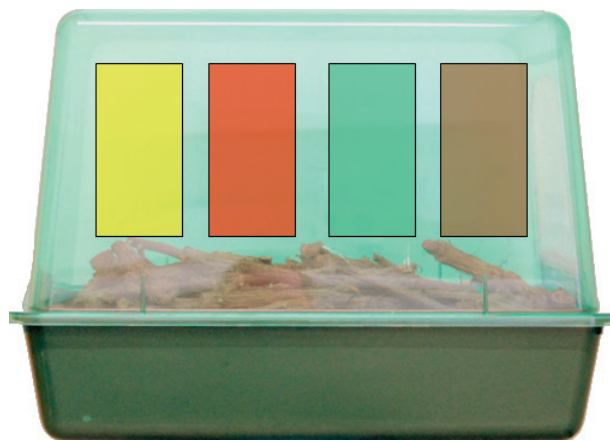
Afin de tester la tendance des larves à s'agréger, des tests de choix ont été réalisés en utilisant le dispositif décrit dans le Chapitre 2 (Fig. 41, p. 123). Quatre boutures similaires de Cabernet-Sauvignon, même âge et même stade de développement (8/9 feuilles), ont été disposées aux quatre coins de la cage. Ensuite, un nombre variable d'individus (140 à 350) a été placé au centre de la cage, à égale distance de chaque plante. Le nombre d'insectes sur chaque plante a ensuite été déterminé par comptage 9 heures après l'introduction. Six répétitions de chaque cage ont été effectuées.

### 2. Quels stimuli de la plante hôte peuvent être impliqués ?

#### a) La couleur

Dans l'optique de déterminer l'influence de la couleur sur la sélection du site d'alimentation des cicadelles nouvellement écloses, quatre plaques cartonnées (8 x 23,6 cm) et

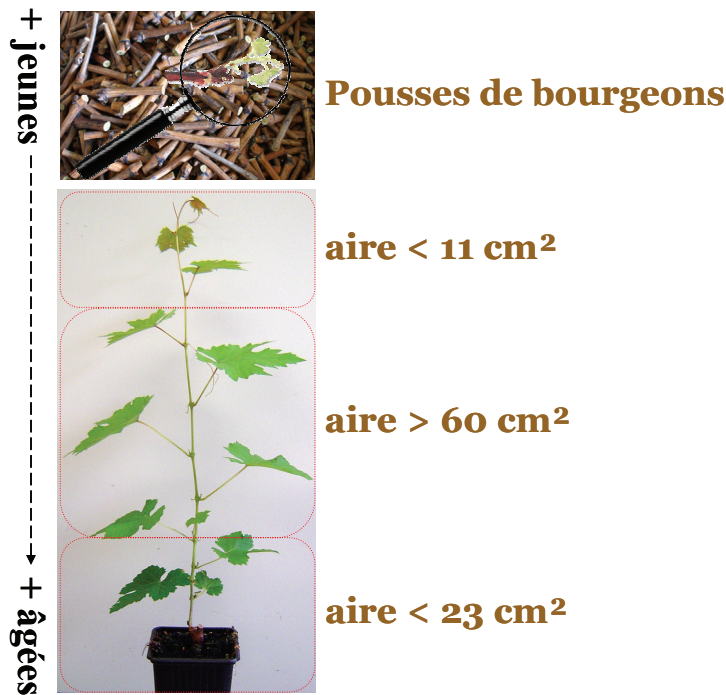
engluées avec de la glu à insectes en spray (Saveurode, Siegfried AG, Zofingen, Suisse) ont été placées à la face interne des couvercles des cages d'éclosions à l'aide de ruban adhésif double-face (Fig. 52). Les quatre couleurs choisies : le marron (RVB : 153 ; 102 ; 0), le vert (RVB : 46 ; 208 ; 38), le rouge (RVB : 255 ; 0 ; 0) et le jaune (RVB : 255 ; 255 ; 0) symbolisent des organes de vigne, respectivement l'écorce, les organes chlorophylliens, les baies mûres et/ou les symptômes de FD sur feuilles. Aucune source d'alimentation n'est fournie aux larves. Les larves engluées sur chaque piège sont dénombrées tous les jours durant 28 jours. Après chaque comptage, les pièges sont redistribués aléatoirement afin d'éviter un éventuel effet de position. Trois cages d'éclosion ont été suivies en parallèle.



**Figure 52.** Dispositif utilisé pour l'attractivité des couleurs.

### b) L'âge de la ressource

Pour étudier l'importance de l'âge de la ressource dans le choix des larves, la distribution des larves à l'échelle de la plante a été observée. Pour cela, deux boutures de Cabernet Sauvignon ont été disposées dans des cages d'éclosion comme seule source d'alimentation. Les feuilles des boutures ont été divisées en quatre catégories en fonction de leur taille et de leur position sur la plante (Fig. 53) : 1) les petites feuilles de l'extrémité apicale qui regroupent les feuilles les plus jeunes dont la superficie est inférieure à 11 cm<sup>2</sup>, 2) les petites feuilles de la base qui correspondent aux feuilles les plus âgées et dont l'aire est inférieure à 23 cm<sup>2</sup>, 3) les grandes feuilles situées en position intermédiaire avec une superficie supérieure à 60 cm<sup>2</sup>, et 4) les pousses de bourgeons issues des bois porteurs d'œufs et dont les bourgeons ont débouffé à cause de l'humidité dans la cage d'éclosion. Le nombre de L1 sur chaque feuille a été mesuré chaque jour pendant 33 jours et l'aire de chaque feuille a été mesurée grâce à un planimètre Li-Cor de type LI-3100 Area meter (Lincoln, Nebraska USA). Trois cages d'éclosion ont été suivies en parallèle.



**Figure 53.** Catégories de feuilles en fonction de leur position sur la bouture. Aire moyenne des feuilles exprimée en  $\text{cm}^2$

### 3. Quels stimuli provenant des congénères peuvent-être impliqués ?

#### a) Réponse aux odeurs de congénères

Afin d'estimer l'existence de stimuli olfactifs produits par les congénères dans l'agrégation des larves, une extraction à température ambiante de 8 000 larves âgées d'un jour dans 8 ml de dichlorométhane a été réalisée. Ce solvant a été choisi pour sa polarité intermédiaire, son large spectre d'extraction et sa grande volatilité. Après 24 heures d'extraction, l'extrait a été filtré sur de la fibre de verre non tissée et préalablement lavée puis le solvant a été évaporé sous un flux d'azote (qualité médicale). Une fois le volume de l'extrait ramené à 0,2 ml, il a été repris dans 7,8 ml d'eau ultra pure (qualité HPLC) afin d'obtenir un volume d'extrait correspondant à une concentration de 1000 équivalent larve. $\text{ml}^{-1}$ . Ensuite, dans le même dispositif expérimental de choix que celui décrit ci-dessus, des larves ont eu le choix entre des boutures pulvérisées avec de 4 ml d'extrait de larves ou d'eau ultra pure. Les volumes pulvérisés à l'aide d'un pulvérisateur Ecological Sprayer (Ecospray, France) ont été ajustés pour correspondre à 5, 25, 50 et 100 larves équivalent par feuille.

## b) L'agrégation peut-elle résulter d'une communication entre les larves ?

Les expérimentations décrites ci-dessous ont été effectuées en collaboration avec le Dr Valerio Mazzoni au sein de l'Istituto Agrario San Michele all'Adige (IASMA) à San Michele all'Adige (Italie) au cours des mois de juin et juillet 2010.

### (1) Insectes

Des larves de 3<sup>ème</sup> à 5<sup>ème</sup> stade larvaire ont été récoltées à l'aide d'un aspirateur à bouche dans un vignoble en agriculture biologique dans la région du Trentin-Haut-Adige (Italie du Nord, 46°3'8"N 11°8'4"E). Les cicadelles ont été maintenues en vie par groupe de cinq individus dans des récipients en plastique (hauteur : 10 cm ; Ø : 5 cm) placés dans une enceinte climatique (25 ± 1 °C, L16:D8, 75 ± 1 % H.R.). Un disque de feuille de vigne (Ø : 5 cm) a été déposé au fond du pot sur environ 1 cm d'une solution d'agar (qualité standard, Sigma Aldrich) à 0,8% masse.vol<sup>-1</sup> et changé deux fois par semaine. Le contenu des récipients était vérifié tous les jours et les adultes enlevés.

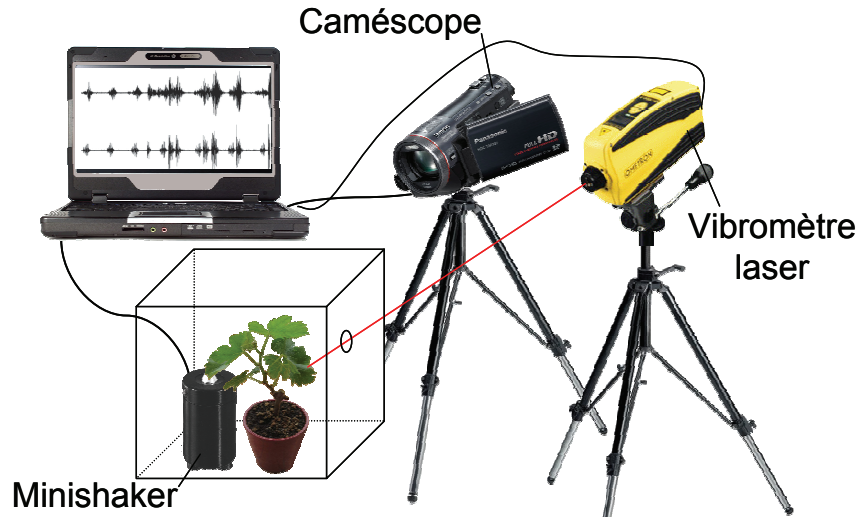
### (2) Enregistrements des signaux vibratoires et observations comportementales

Les signaux vibratoires ont été détectés au niveau du limbe de feuille de vigne à l'aide d'un vibromètre laser (Ometron, VQ-500-D-V, Harpenden, United Kingdom) (Fig. 54). Les signaux ont été digitalisés à une fréquence d'échantillonnage de 48 kHz et une profondeur de signal de 16 bit puis stockés sur le disque dur d'un ordinateur en utilisant une carte son Sound Blaster Audigy 4 (Creative Labs Inc.) et le logiciel Adobe Audition 1.0 (Adobe Systems Inc.). Les signaux enregistrés ont été analysés avec le logiciel Raven 1.2.1 (Charif *et al.* 2004).

Le comportement des larves de *S. titanus* durant l'enregistrement des signaux vibratoires a été filmé avec un caméscope (Panasonic HDC-TM700K). Cela permet d'identifier les individus qui émettent des signaux et de pouvoir associer les éventuels signaux vibratoires à un comportement particulier. Les enregistrements vidéo ont été transférés et stockés via l'utilisation du logiciel HD Writer AE 2.1 (Panasonic) sur un disque dur d'ordinateur.

Les cicadelles ont été placées sur une petite bouture de vigne (3/4 feuilles) avec 2 feuilles principales ou sur une tige de vigne coupée avec une feuille en fonction de l'objectif de l'expérience. La base de la tige coupée était insérée dans une fiole remplie d'eau pour empêcher à la feuille de flétrir. Afin d'éviter aux insectes de s'échapper durant les enregistrements, le dispositif "plante + insectes" est inclus dans une cage en plexiglas muni d'un trou permettant de laisser passer le faisceau du laser.

Des observations préliminaires de l'activité des larves ont été réalisées afin de trouver la meilleure période d'observation au cours de la journée (09h00 - 20h00). Aucune différence d'activité n'ayant été observée, toutes les expérimentations se sont déroulées dans ce créneau horaire.



**Figure 54.** Dispositif d'enregistrement et d'émission de signaux vibratoires couplé à un enregistrement vidéo.

### (3) Emissions de vibrations spontanées

Afin de déterminer si les larves émettent spontanément des signaux vibratoires destinés à communiquer avec leurs congénères, des individus ont été placés sur une feuille de vigne isolée et leur comportement a été enregistré pendant 20 minutes. Ces expériences ont été conduites avec des individus isolés ( $n = 12$ ) ou en groupe de trois à cinq individus (11 répétitions,  $n = 44$ ). Les résultats de ces tests ont été utilisés comme témoins pour comparer le comportement des larves et l'émission spontanée de signaux avec les signaux enregistrés lors des tests avec stimulation.

### (4) Réponses des larves à des stimuli vibratoires

Le but de ces tests était de déterminer si les larves répondent à des signaux externes, tels que vibrations intraspécifiques ou au bruit de fond, que ce soit par l'émission de signaux ou par l'adoption d'un comportement particulier.

Les cicadelles ont été stimulées avec des signaux préenregistrés de *S. titanus* ou synthétisés artificiellement avec le logiciel Cool Edit Pro 2 (Syntrillium Software, Phoenix, USA). L'émission de signaux vibratoires à la surface des feuilles a été réalisée grâce à l'utilisation d'une tige en aluminium (5 cm,  $\varnothing : 4$ cm) dont la pointe est en contact avec la feuille et la base vissée au niveau du sommet d'un minishaker (Type 4810; Bruël and Kjør, 1998).

Nærum, Danemark) piloté par ordinateur *via* Adobe Audition 1.0 (Fig. 54). Les signaux vibratoires utilisés pour les stimulations ont été enregistrés selon le protocole décrit ci-dessus. Les signaux, émis en boucle pendant toute la durée du test, ont été : le bruit de toilettage (grooming noise, GN), le bruit de perturbation des mâles (male disturbance noise, DN) et le bruit "blanc" (white noise, WN) (Tab. 18). Le GN a été obtenu en enregistrant les larves durant leur toilettage et a été utilisé avec la même intensité que l'enregistrement. Le DN est un signal utilisé par les mâles durant la compétition sexuelle (Mazzoni *et al.* 2009c). Deux intensités de DN ont été utilisées : l'une correspondant à l'intensité naturelle, l'autre étant augmentée de 20 db. Le WN est un signal à large bande avec un spectre couvrant une fréquence de 0 à 8 000 Hz, créé avec Adobe Audition 1.0 et utilisé avec une intensité naturelle, augmenté de 10 et 20 db.

**Tableau 18.** Compilation des stimuli utilisés.

Stimulus	Durée (s)	Dispositif	Type de test	Durée d'enregistrement (min)	Nb de répétitions	Nb d'insectes
GN	3	Feuille isolée / bouture	Individuel	15	22	22
DN	2	Bouture	Groupe	15	8	54
DN + 20 db	2	Bouture	Groupe	15	10	62
WN	3	Bouture	Groupe	30	10	58
WN + 10 db	3	Bouture	Groupe	30	10	60
WN + 20 db	3	Bouture	Groupe	30	10	60
Araignées	-	Feuille isolée	Groupe	15	15	109

### (5) Réponses des larves à la présence de prédateurs

Pour contrôler si le regroupement peut permettre aux larves d'être informées de la présence d'un prédateur, le comportement et l'émission de signaux ont été analysés en présence d'Arachnides récolté dans le vignoble et dans la végétation à proximité du centre de recherche IASMA (Tab. 18). Les prédateurs ont été mis à jeûner de 3 à 6 heures avant leur utilisation afin d'augmenter leur motivation pour s'alimenter. La famille et le genre, lorsque cela a été possible, ont ensuite été identifiés. Onze individus, appartenant à sept espèces différentes ont été utilisées (Tab. 19). Les individus de la plupart des familles utilisés ont un comportement de chasse actif et constituent une bonne source de stimulations.

Afin de maximiser les contacts entre cicadelles et araignées, un dispositif de contention plus petit que la cage en plexiglas utilisée dans les autres expériences a été employé. Il consistait en une boîte en plastique cylindrique (hauteur: 16 cm, Ø à la base: 8 cm, au sommet 5,5 cm). Pour chaque test, une araignée est mise en présence de 5 à 10 larves sur une feuille isolée pendant 15 min.

**Tableau 19.** Caractéristiques des Arachnides utilisés comme source de stimulations. n.d. : non déterminé

n°	Stade	Sexe	Famille	Espèce	Prédation
1	Larve	-	Clubionidae	n.d.	Chasse active
2	Adulte	Femelle	Thomisidae	n.d.	Chasse active
3	Adulte	Femelle	Salticidae	n.d.	Chasse active
4	Adulte	Femelle	Phylodromidae	<i>Phylodromus rufus</i>	Chasse active
5	Larve	-	Thomisidae	<i>Misumenops tricuspidatus</i>	Chasse active
6	Adulte	Femelle	Salticidae	<i>Salticus sp. (zebraneus ?)</i>	Chasse active
7	Adulte	Femelle	Salticidae	<i>Salticus sp. (zebraneus ?)</i>	Chasse active
8	Larve	-	Phylodromidae	n.d.	Chasse active
9	Adulte	Mâle	Gnaphosidae (?)	n.d.	Toile (passive)
10	Adulte	Femelle	Salticidae	n.d.	Chasse active
11	Larve	-	Opilionidae	n.d.	n.d.

### c) Essais de transmission horizontale

Afin de vérifier si le regroupement des vecteurs au niveau du site d'alimentation peut permettre le transfert de phytoplasmes d'un individu infectieux vers un individu sain *via* la plante sur laquelle ils s'alimentent, des expériences d'essais de transfert "horizontal" ont été réalisées sur 2 modèles biologiques différents :

- le modèle "expérimental" *Euscelidius variegatus* / *V. faba* qui sert de témoin. Dix cicadelles adultes alimentées sur fèves FD et dix autres alimentées sur fèves saines ont été mis ensemble sur un plant de fève sain. Afin de discerner les deux catégories d'insectes, les cicadelles alimentées sur fèves FD ont été marquées au niveau des élytres avec une petite goutte de correcteur blanc (Liquid Paper, Paper Mate, Atlanta, GA) déposée à l'aide d'un pinceau fin. Au bout de 21 jours, les insectes sont prélevés puis insérés individuellement dans un tube Eppendorf de 1,5 ml rempli d'éthanol 95 % puis conservés à – 18 °C jusqu'aux tests de détection du phytoplasme par PCR multiplex (Chapitre 2, p. 123).

- le modèle "naturel" *S. titanus* / *V. vinifera*. Un protocole proche de celui décrit ci-dessus a été utilisé mais cette expérience s'est déroulée dans la serre de haut confinement biologique (S3) de l'UMR GDPP, sur le site de l'INRA de Bordeaux. Dix adultes alimentés sur fèves FD et 30 larves alimentées sur boutures de vignes saines ont été déposées sur une bouture saine de Baco 22 A. Au bout de 21 jours, les insectes sont prélevés puis insérés individuellement dans un tube Eppendorf de 1,5 ml rempli d'éthanol 95 % puis conservés à – 18 °C jusqu'aux tests de détection du phytoplasme. Des feuilles des boutures de Baco 22 A ont aussi été prélevées afin de tester la présence de phytoplasme et de s'assurer que des phytoplasmes ont bien été inoculées par les cicadelles porteuses. Deux répétitions ont été effectuées.



### d) Statistiques

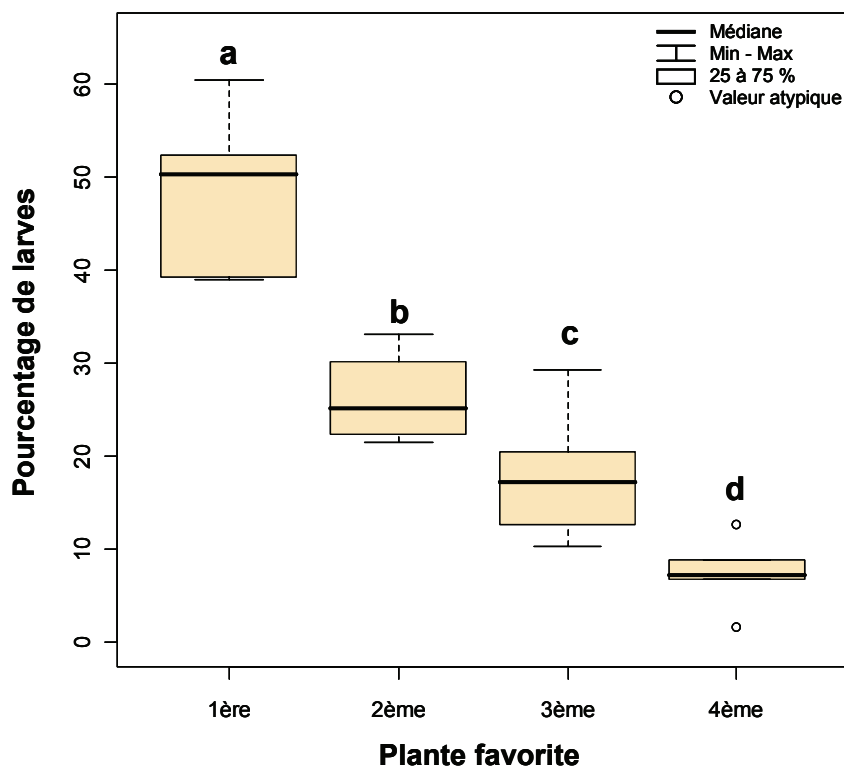
Les résultats des tests d'agrégation et d'attractivité des couleurs et des différentes classes de feuilles ont été traités avec le test de Wilcoxon pour échantillons appariés. Pour déterminer les différences entre chaque catégorie, un LSD de Fisher a été utilisé comme test *a posteriori*.

La significativité des différences entre les boutures témoins et pulvérisées avec les différentes concentrations d'extraits de larves a été évaluée grâce au test de Wilcoxon pour échantillons appariés.

L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel de statistique R 2.8.1. (R Development Core Team 2007).

## C. Résultats

### 1. Les larves ont tendance à se regrouper.



**Figure 55.** Pourcentage de larves par bouture. 1<sup>ère</sup> : plante recevant le plus de larves lors de chaque répétition, 2<sup>ème</sup> : deuxième plante la plus choisie par les larves, 3<sup>ème</sup> : troisième plante la plus choisie par les larves, 4<sup>ème</sup> : plante la moins choisie. Des lettres différentes correspondent à des différences significatives en Anova de Friedman et au test post hoc du LSD au seuil de 1 %.

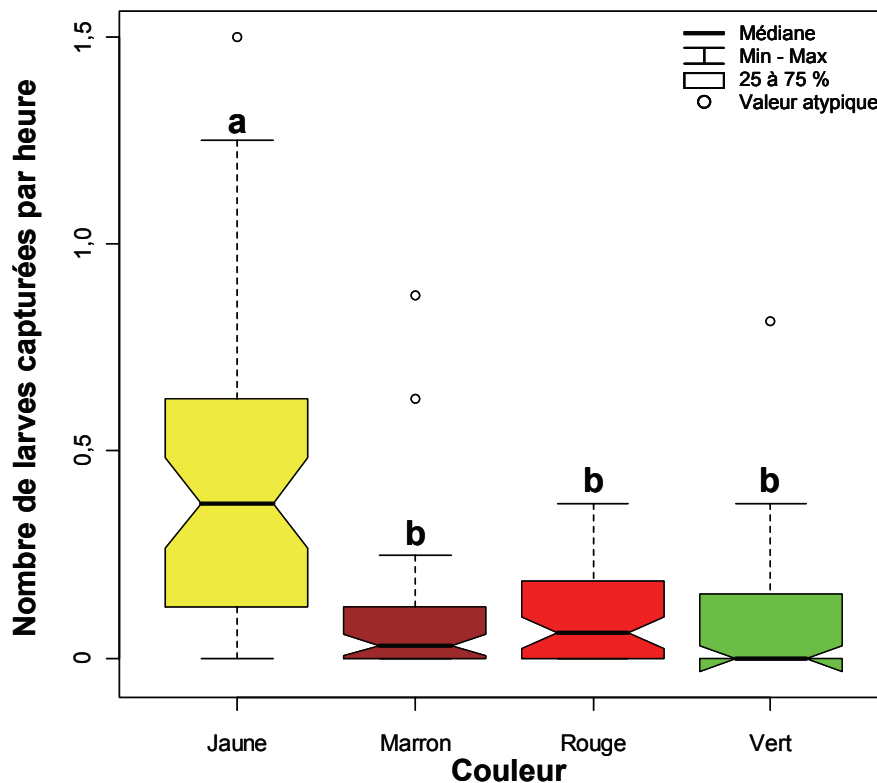
Les larves tendent à s'agréger puisque les tests de choix entre quatre boutures identiques ont montré qu'il y avait toujours une plante dite "favorite" où se retrouvait majoritairement les

insectes (39 à 60 % des larves) et représentant en moyenne la moitié des individus ( $\chi^2 = 17,75$  ;  $p < 0,01$  ; Fig. 55). Cette agrégation se retrouve au niveau des autres plantes, puisque la distribution des larves n'est pas homogène sur les plantes restantes.

## 2. Quelles informations produites par la plante hôte peuvent être impliquées ?

### a) La couleur peut représenter un stimulus d'agrégation

Dans les cages d'éclosion où ont été disposés les quatre pièges chromatiques englués, la grande majorité des larves (1150 individus) a été capturée par le piège jaune ( $\chi^2 = 85,66$  ;  $p < 0,01$  ; Fig. 56). Aucune différence significative d'attractivité n'a été observée entre les pièges marron, rouge et vert (respectivement 179, 156 et 154 cicadelles engluées).

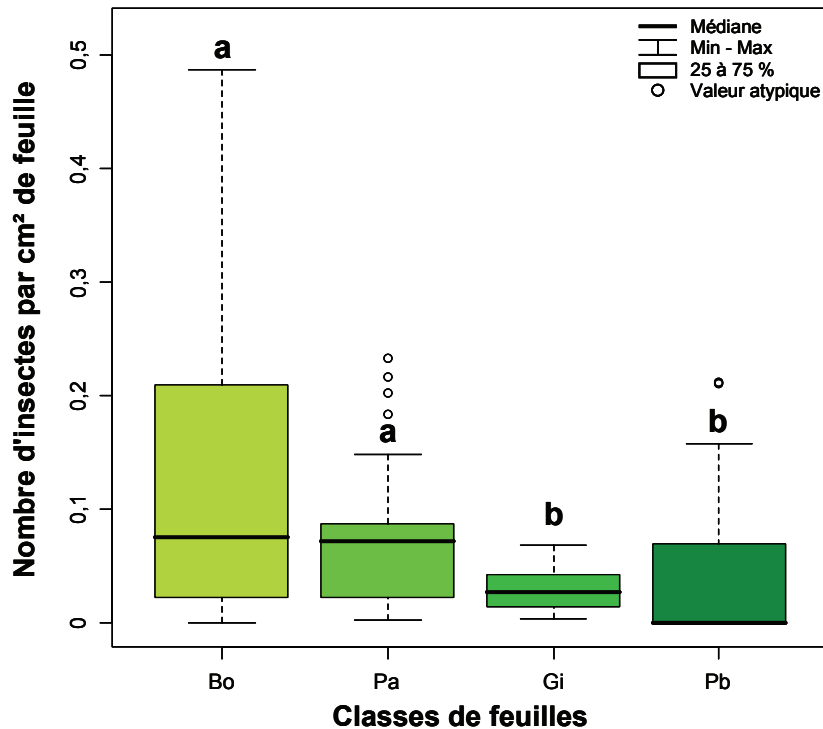


**Figure 56.** Captures de larves aux pièges chromatiques englués. Des lettres différentes correspondent à des différences significatives en Anova de Friedman et au test post hoc du LSD au seuil de 1 %.

b) L'âge de la ressource peut également être un facteur intervenant dans l'agrégation.

Les plus jeunes organes sont ceux où ont été observées les plus fortes densités de larves (Fig. 57). Ainsi, les bourgeons et les petites feuilles de l'extrémité apicale des boutures ont eu

des densités significativement supérieures à celles des organes plus âgés que sont les feuilles de la partie médiane et basale des boutures ( $\chi^2 = 25,23$  ;  $p < 0,01$ ).

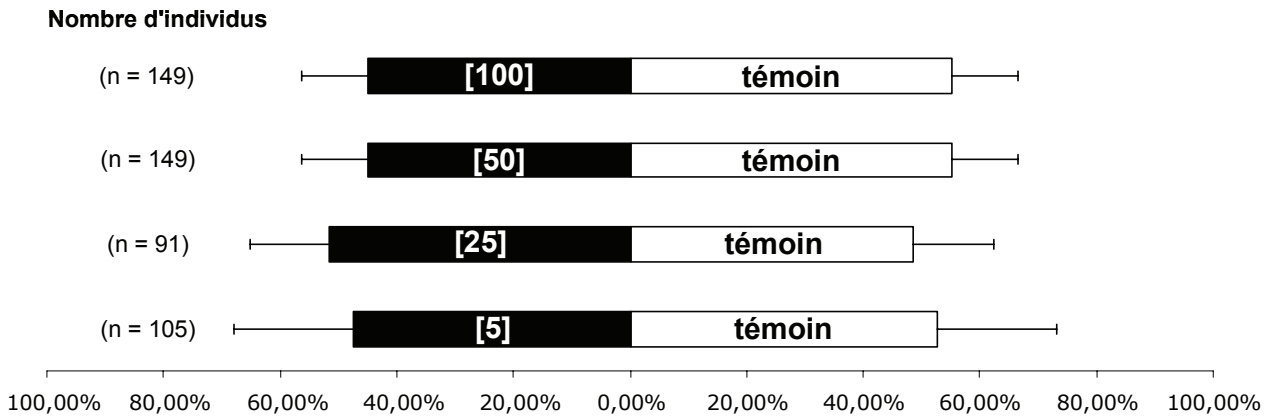


**Figure 57.** Densités larvaires sur différentes classes de feuilles. Bo : bourgeons, Pa : petites feuilles de l'apex, Gi : grandes feuilles en position intermédiaire, Pb : petites feuilles du bas. Des lettres différentes correspondent à des différences significatives en Anova de Friedman et au test post hoc du LSD au seuil de 1 %.

### 3. Quels stimuli provenant des congénères peuvent être impliqués ?

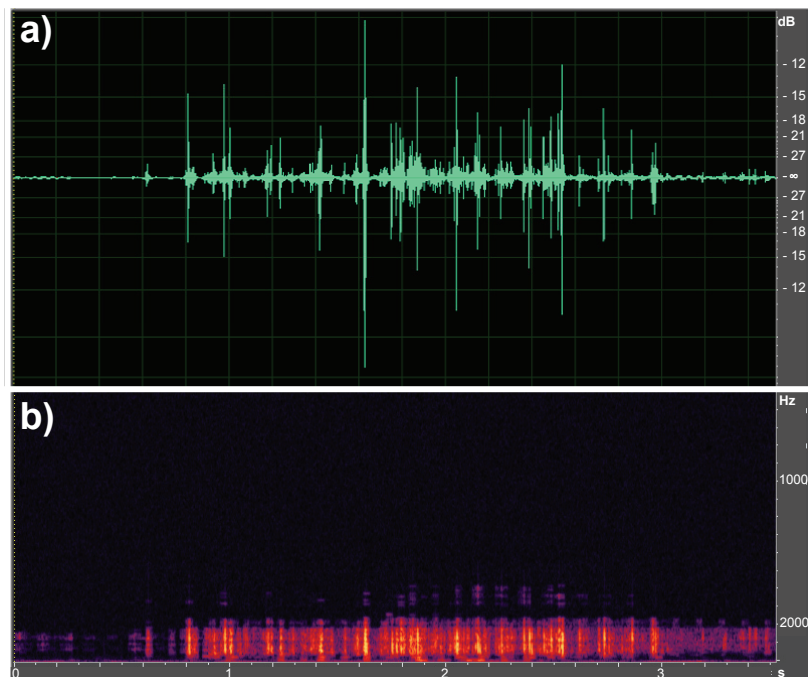
#### a) Les larves sont insensibles aux odeurs de congénères.

Quelle que soit la concentration testée (5, 25, 50 ou 100 larves équivalent), les larves n'ont pas montré de préférence entre les plantes sur lesquelles a été pulvérisé de l'extrait de larves ou de l'eau (respectivement,  $Z = 0$  ; 0,53 ; 0,67 ; 0,67 ;  $p > 0,05$  ; Fig. 58). L'extrait s'est révélé être ni attractif, ni répulsif.



**Figure 58.** Réponses aux odeurs de congénères. [X] : concentration en X larves équivalent par feuille.

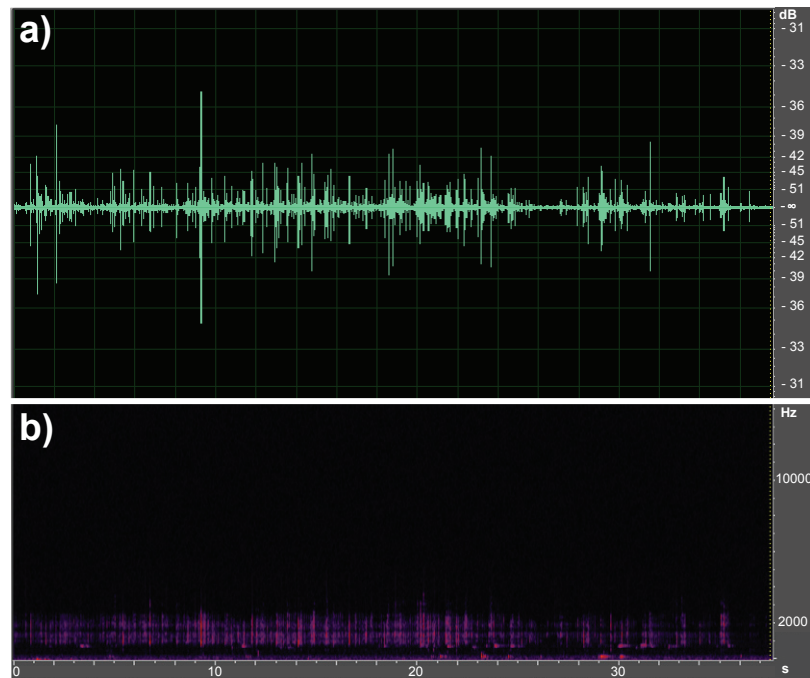
b) L'agrégation des larves ne peut être expliquée par une communication vibratoire entre congénères.



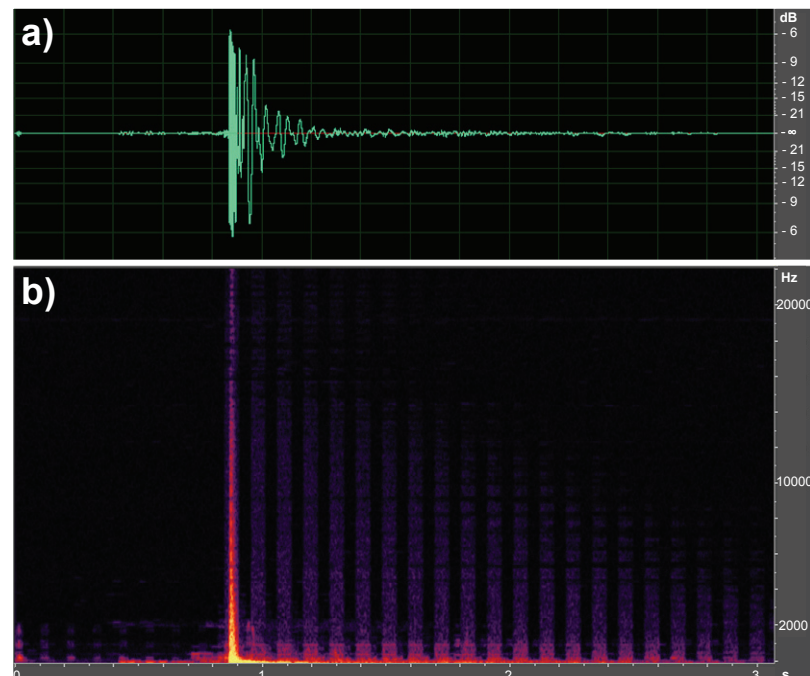
**Figure 59.** Forme (en haut) et fréquence spectrale (en bas) d'une onde vibratoire correspondant à du toilettage (grooming).

Aucun signal vibratoire n'a été spontanément émis par les larves, qu'elles soient isolées ou en groupe, malgré une grande proximité et des contacts physiques entre individus dans cette dernière catégorie. Les principales vibrations produites par les larves ont été dues à leurs

mouvements, particulièrement au cours du toilettage (grooming) (Fig. 59), de la production et de l'étalement de brochosome<sup>1</sup> (Fig. 60), et des sauts (Fig. 61).



**Figure 60.** Forme (a) et fréquence spectrale (b) d'une onde vibratoire correspondant à de l'étalement de brochosomes.



**Figure 61.** Forme (a) et fréquence spectrale (b) d'une onde vibratoire correspondant à un saut.

<sup>1</sup> Brochosome : substance produite par les tubes de Malpighi des cicadelles et dont les fonctions ne sont pas clairement déterminées.

L'émission de signaux vibratoires de toilettage (GM) n'a ni attiré ni repoussé les larves de la feuille d'où ils ont été émis. Aucune modification d'autres comportements n'a été observée avec l'utilisation du GM, pas plus qu'avec le bruit de perturbation des mâles (DN) et le bruit "blanc" (WN), et ce, quelle que soient les intensités testées.

#### 4. L'agrégation des larves ne semble pas être une stratégie de réponse aux prédateurs

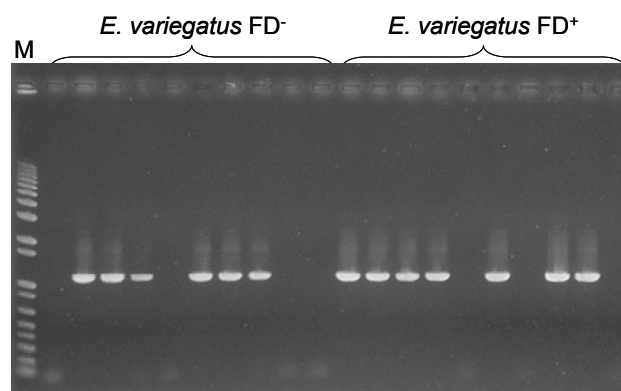
La plupart des araignées utilisées au cours des tests ont été très actives. Cette activité a généré différentes catégories de stimulations : vibratoires, visuelles et tactiles, mais sans jamais induire l'émission de vibration par les larves ou de comportement spécifique.

Au cours des expériences, des araignées de la famille des Thomisidae et des Salticidae (araignées n° 2 & 3 ; Tab. 19) se sont alimentées de *S. titanus*, et une autre espèce de Salticidae (n°6 ; Tab. 19) a essayé d'en capturer. Cette prédation ou ces tentatives n'ont suscité aucune réaction de la proie ou des congénères voisins. Mêmes si certaines espèces ne semblaient pas être intéressées par la présence de larves de cicadelles, elles ont été actives et ont généré des vibrations et des contacts physiques avec les larves.

Les larves n'ont jamais cherché à éviter le contact avec les araignées même si ceux-ci étaient souvent suivis d'un saut. Dans la majorité des observations, lorsqu'une larve se trouvait face à une araignée, la cicadelle manifestait une posture d'intimidation en relevant sa tête et son thorax et en se balançant de gauche à droite sur ses deux paires de pattes antérieures. Le face à face se terminait par l'attaque de l'araignée ou le départ de la cicadelle (saut ou marche).

#### 5. Essais de transmission horizontale

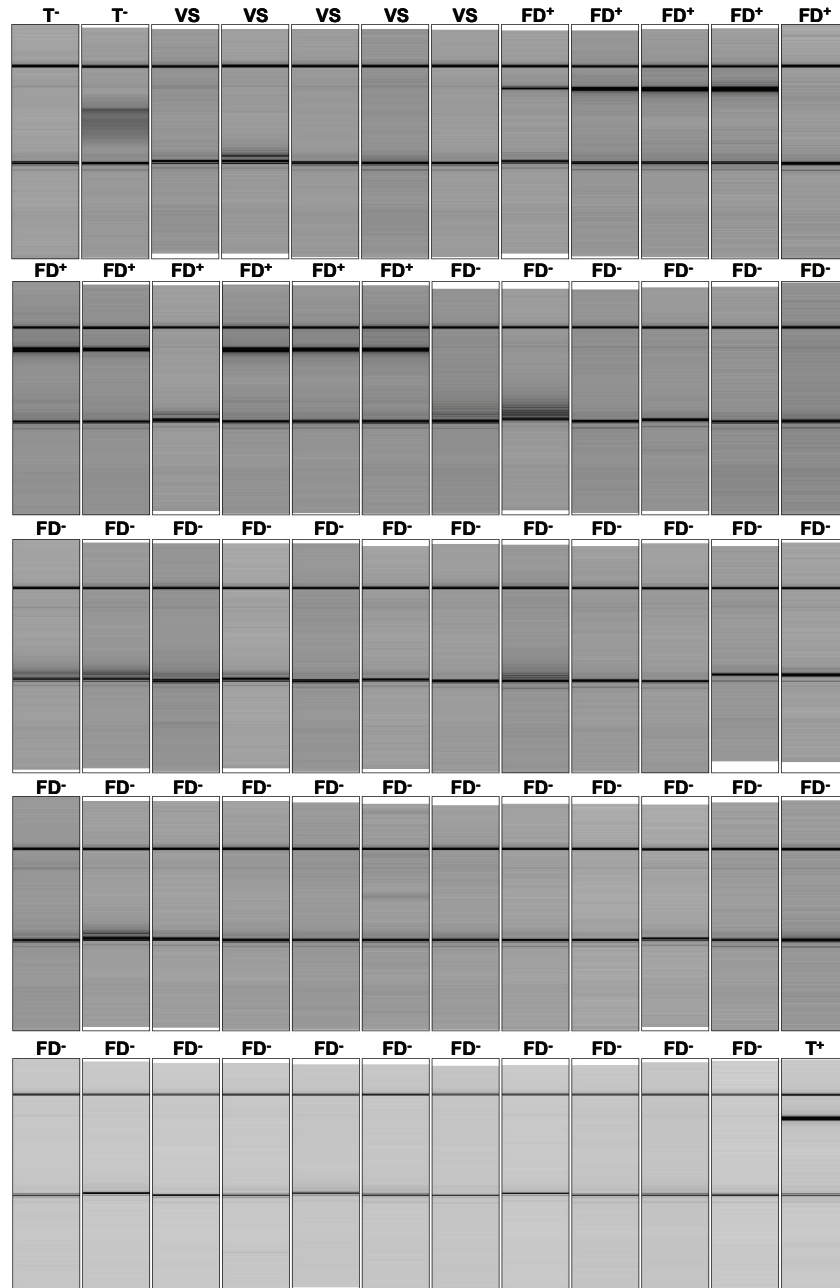
##### a) Le modèle expérimental *E. variegatus* / *V. faba*



**Figure 62.** Résultats des tests de détection du phytoplasme dans les *E. variegatus* alimentés sur fèves saines (FD<sup>-</sup>) ou sur fèves atteintes de FD (FD<sup>+</sup>). M : marqueurs moléculaires.

Parmi les *E. variegatus* alimentés sur fèves FD, 7 individus sur 10 se sont révélés être porteurs du phytoplasme en PCR (Fig. 62). Une proportion importante (6 / 10) des individus sains ont pu acquérir le phytoplasme en s'alimentant simultanément avec des insectes infectieux sur une plante saine (Fig. 62).

b) Le modèle "naturel" *S. titanus* / *V. vinifera*.



**Figure 63.** Résultats des tests de détection du phytoplasme. T<sup>-</sup> : témoin négatif (eau), T<sup>+</sup> : témoin positif (vigne FD), VS : vigne saine, FD<sup>+</sup> : *S. titanus* alimentés sur fèves FD, FD<sup>-</sup> : *S. titanus* alimentés sur vigne saine.



L'acquisition du phytoplasme par les individus alimentés sur fèves FD a été efficace (9 individus positifs sur 11 testés) (Fig. 63). En revanche, aucun ADN de phytoplasme n'a été détecté dans les *S. titanus* sains s'alimentant sur boutures saines avec les cicadelles infectieuses, ni dans les boutures sur lesquelles elles se sont alimentées (Fig. 63).

## D. Discussion

Les résultats des tests d'agrégation démontrent que la répartition agrégative des larves observée en vignoble peut résulter du comportement des larves, indépendamment d'un éventuel comportement de ponte des femelles de type agrégatif, même si des pontes agrégatives pourraient aussi contribuer à une agrégation des larves.

### **1. L'agrégation des larves de *S. titanus* ne semble pas être de nature "sociale"**

Les stratégies de regroupement, pour être le plus efficace possible, nécessitent souvent l'existence d'une communication entre les individus. Aucune communication n'a été observée chez les larves de *S. titanus* puisque, contrairement aux adultes (Mazzoni *et al.* 2009c), elles ne manifestent aucune activité vibratoire, que se soit spontanément ou en réponse à des stimulations de congénères. En fait, aucune autre vibration que celles dues au contact de l'insecte avec la feuille (marche, sauts) ou aux frottements de leur corps (nettoyage, onction de brochosomes) n'a été détectée. L'émission répétée de ces signaux mécaniques n'a pas provoqué de réponses de la part de larves isolées ou en groupe.

Les travaux présentés dans le Chapitre 2 ont montré que, malgré la grande sensibilité de *S. titanus* aux flux d'air, les odeurs pourraient avoir un rôle à courte distance en "fixant" l'insecte sur sa plante hôte. Cependant, la pulvérisation de boutures de vignes avec des extraits de larves n'a pas eu d'effet sur le comportement de choix des larves. Si l'olfaction chez les Hémiptères peut avoir un rôle dans l'agrégation *via* l'émission de phéromones (Kay 1976; Aldrich 1988; Pettersson & Stephansson 1991; Hardie *et al.* 1996), elle ne semble pas avoir de rôle chez les cicadelles puisque, dans la seule étude rapportant l'émission de composés volatiles, ceux-ci ont un rôle dans la communication interspécifique (Alla *et al.* 2002).

L'agrégation des larves ne semble donc pas résulter d'un recrutement des individus à partir de "pionniers" *via* l'émission de vibrations ou de composés volatiles. Ces résultats laissent donc penser que la distribution agrégative des larves de *S. titanus* n'est pas due à la

présence de congénères et qu'il s'agirait donc d'une agrégation "non sociale". Il est toutefois impossible d'exclure la possibilité que des stimulations provenant des congénères (vibrations, composés volatiles...) ne puissent avoir un effet sur d'autres aspects de la vie des larves, tels que leur comportement alimentaire ou leur niveau de stress.

## **2. Les caractéristiques de la plante hôte doivent avoir un rôle dans l'agrégation**

L'agrégation d'individus peut être la résultante de choix individuels pour un site commun. Dans le cas d'insectes phytophages, l'agrégation au niveau du site d'alimentation peut résulter de propriétés physiques et/ou chimiques d'une plante ou de certains organes (Pickett *et al.* 1992; Barker 1997; Michaud 1999). Les résultats présentés dans ce chapitre montrent que la distribution agrégative des larves existe également à l'échelle de la plante où les densités les plus élevées se retrouvent au niveau des plus jeunes organes. Ce résultat témoigne d'un véritable choix des larves pour les feuilles les plus jeunes puisque les deux catégories de feuilles les plus attractives sont celles les plus proches (pousses de bourgeons) et les plus éloignées (feuilles apicales) du site d'éclosion. Cette préférence pour les organes les plus jeunes est probablement corrélée à leur haute valeur nutritive (Cates 1980; Mooney & Gulmon 1982; Karley *et al.* 2002). L'attractivité de la couleur jaune peut être mise en relation avec cette préférence pour les jeunes organes. En effet, la composante jaune des jeunes feuilles riches en azote (Mooney & Gulmon 1982) peut être un facteur exploité par les insectes pour localiser les organes les plus énergétiques. Ceci pourrait expliquer la forte attraction des insectes piqueurs suceurs pour cette couleur (Saxena *et al.* 1974; Prokopy & Owens 1983; Todd *et al.* 1990a).

Une répartition agrégative des larves à l'échelle de la plante est aussi observée en vignoble. En effet, les jeunes larves préfèrent s'alimenter sur les feuilles des jeunes organes en développement que sont les pampres<sup>1</sup>, les gourmands<sup>2</sup> et les sagates<sup>3</sup> lorsqu'ils existent (Schvester *et al.* 1962b; Bernard & Du Fretay 1988; Posenato *et al.* 2001). D'autres facteurs que l'appétence des jeunes organes gouvernent les choix du site d'alimentation par les larves de *S. titanus*. Dans les conditions particulières du laboratoire ou de conditions climatiques favorables (Bernard & Du Fretay 1988), les larves peuvent être retrouvées au niveau des

---

<sup>1</sup> Pampre : rameau de vigne avec feuilles et grappes.

<sup>2</sup> Gourmand : rameau qui pousse sur le tronc de la souche.

<sup>3</sup> Sagate : rejet du porte-greffe qui pousse au pied de la souche.

jeunes feuilles des apex. Cependant les larves sont particulièrement retrouvées au niveau des feuilles les plus abritées : les feuilles basses et intérieures du cep (Schvester *et al.* 1962b; Lessio & Alma 2006). La répartition des larves doit donc être affectée par d'autres facteurs comme les conditions microclimatiques (ensoleillement, humidité, température...) ou l'exposition aux prédateurs et parasitoïdes.

En effet, la présence de prédateurs, notamment des araignées, est un facteur pouvant affecter la distribution spatiale, la dynamique et le comportement des Auchénorrhynques (Cronin *et al.* 2004). Certains Auchénorrhynques, comme les Membracides *Umbonia crassicornis* et *Publilia concava* utilisent l'agrégation comme stratégie de défense contre les prédateurs. C'est ainsi que les larves d'*U. crassicornis* émettent des vibrations de manière synchronisée en réponse à la présence de guêpes prédatrices, et ce afin déclencher un comportement de défense de la part de leur mère (Cocroft 1999). Les larves de *P. concava*, quant à elles, émettent des signaux vibratoires interspécifiques destinés à des fourmis mutualistes qui les défendent de l'attaque de coccinelles (Morales *et al.* 2008). Ces comportements semblent limités à la famille des Membracidae et les larves de *S. titanus* (famille des Cicadellidae) n'émettent aucune vibration particulière en présence et lors de l'attaque de prédateurs.

### 3. Apport de ces connaissances dans l'épidémiologie de la FD

Le comportement d'agrégation des larves est un élément important dans l'épidémiologie des maladies vectées. En effet, l'acquisition et l'inoculation de l'agent pathogène, ainsi que la vitesse de propagation de l'épidémie sont affectées (Zhang *et al.* 2000). Sans la lutte contre des épidémies incurables et dont les symptômes apparaissent dans un délai important après l'infection, comme la FD, la bonne connaissance des paramètres liés à l'épidémiologie de la maladie est essentielle, notamment dans la conception de modèles de prévision de risques.

L'alimentation d'un grand nombre d'individus sur le même site d'alimentation peut permettre un transfert rapide de l'agent pathogène d'un vecteur infectieux à un vecteur sain en s'affranchissant du temps d'incubation dans la plante. Un tel mécanisme raccourcirait drastiquement les délais entre l'inoculation du pathogène dans une plante et son statut de réservoir. En outre, il permettrait d'accroître de manière significative le nombre d'individus infectieux dans la population de vecteur et donc la capacité à la pathologie de s'étendre. Un tel processus a pu être produit avec le modèle *E. variegatus* / *V. faba* mais pas avec le modèle *S. titanus* / *V. vinifera*. Deux explications peuvent être avancées pour expliquer cette différence : 1) le cycle du phytoplasme dans la fève (modèle herbacé) est plus rapide et les phytoplasmes

inoculés par les cicadelles porteuses ont eu le temps de descendre au niveau des racines et d'être redistribués dans la plante où ils ont pu être acquis par les individus sains, 2) les *S. titanus* utilisés, bien que porteurs du phytoplasme, n'ont pas injecté de phytoplasme dans les boutures de vigne. En effet, aucune des boutures testées ne se sont révélées positives.

## **Chapitre 4**

# **Etude du comportement alimentaire de *S. titanus* en électropénétrographie**

## A. Introduction

Au cours de l'évolution, les insectes ont développé une grande diversité de pièces buccales leur permettant d'exploiter différentes niches écologiques (Labandeira 1997). On peut regrouper les insectes en deux grandes catégories en se basant sur la forme et le fonctionnement de leurs pièces buccales (Calatayud & Le Rü 2011) :

- les insectes "broyeurs" qui se caractérisent par la présence de mandibules développées, puissantes et tranchantes. Parmi leurs représentants on peut nommer les Coléoptères, les Hyménoptères, les Orthoptères et les larves de Lépidoptères.

- les insectes "suceurs" dont les pièces buccales sont modifiées en stylets et forment un tube par lequel les aliments liquides sont aspirés. Dans cette catégorie, on peut distinguer les insectes "suceurs-lécheurs" dont le labium très développé forme une trompe molle appelée proboscis (par exemple les Diptères Muscides), les "suceurs-lécheurs" muni d'une spiritrompe (Lépidoptères adultes) et les "piqueurs-suceurs" qui se nourrissent du sang des animaux (par exemple les Diptères Culicidae), ou des composés liquides des tissus végétaux (la grande majorité des Hémiptères).

L'étude du comportement alimentaire fournit de nombreuses informations sur leur biologie et leur écologie. L'observation de ce comportement est dépendante du mode d'alimentation de l'insecte et s'avère plus ou moins aisée. Ainsi, l'étude de l'alimentation des Hémiptères, de par leur prise alimentaire à l'intérieur des tissus, est impossible par l'observation directe. Pour pallier cette impossibilité, il a été développé une méthode indirecte basée sur l'enregistrement des variations de résistance électrique générées lors de l'alimentation des Hémiptères : l'électropénétrographie (EPG).

La technique EPG a été développée par Tjallingii dans les années 1980 (Tjallingii 1978b; 1982; 1985; 1987; 1988) à partir des travaux initiés par Mc Lean et Kinsey (1964; 1965). Cette technique consiste à connecter l'insecte et la plante sur laquelle il s'alimente dans un circuit électrique et à enregistrer les variations de résistance électrique générées par l'activité alimentaire de l'insecte. Ces variations produisent des profils différents qui sont corrélés à des comportements particuliers traduisant la position des stylets dans les tissus végétaux ainsi que l'activité alimentaire (mouvements des stylets, de la pompe cibariale, salivation...) (Sauvion & Rahbe 1999).

Cette technique a été davantage utilisée pour l'étude du comportement d'alimentation des pucerons que sur les autres Hémiptères phytophages (cicadelles, psylles...). Ainsi, les études d'EPG menées sur les Aphididae représentaient plus de 95 % des publications à la fin des années 1990 (Sauvion & Rahbe 1999). Depuis, la diversité des organismes étudiés s'est amplifiée et on compte plusieurs études portant par exemple sur les aleurodes (Jiang *et al.*

2000; 2001; Johnson *et al.* 2002), les cicadelles (Lett *et al.* 2001; Almeida & Backus 2004; Jin & Baoyu 2007; Stafford & Walker 2009; Stafford *et al.* 2009), les psylles (Bonani *et al.* 2010) ou les cochenilles (Cid & Fereres 2010).

L'EPG permet la compréhension des processus fondamentaux impliqués dans l'alimentation, en particulier les mécanismes de résistance des plantes aux insectes (Montllor & Tjallingii 1989; Shieh *et al.* 1994; Jiang *et al.* 2001; Sauvion *et al.* 2004; Hu *et al.* 2008) et la vection d'agents pathogènes (Scheller & Shukle 1986; Powell *et al.* 1995; Jiang *et al.* 2000; Backus *et al.* 2005; Stafford *et al.* 2009).

L'objectif de la mise au point de l'outil EPG pour l'étude du comportement alimentaire de *S. titanus* dans ce travail de thèse ne vise pas à réaliser une étude fine de l'alimentation de cet insecte. Un tel développement nécessiterait en effet l'utilisation de techniques lourdes et chronophages de stylectomie et de microscopie électronique, ce qui pourrait constituer un sujet de doctorat à part entière. Le but ici est de développer à court terme un outil permettant de discriminer facilement et assez rapidement des différences de comportement liées à la vection, par exemple dans le cadre de l'utilisation de traitements antiappétants ou de différents cépages. Pour cela, nous avons corrélé les profils obtenus en EPG avec l'activité alimentaire de *S. titanus* en les confrontant aux données disponibles dans la littérature. Ce chapitre essaiera donc de répondre aux questions suivantes :

- **La technique EPG est-elle aisément transposable à l'étude du comportement alimentaire de *S. titanus*?**
- **Peut-on caractériser des profils liés à des séquences comportementales importantes dans les mécanismes de vection (phases phloémiennes, salivation...)?**
- ***Scaphoideus titanus* est-il un phloémophage strict ?**
- **Existe-t-il des différences de comportement alimentaire liées au sexe ?**

## B. Matériels et méthodes

### 1. Matériel biologique

Les expérimentations d'EPG ont été effectuées avec des adultes mâles et femelles obtenus selon la méthode décrite dans le Chapitre 1 (p. 75), 7 à 14 jours après leur émergence. Tous les



enregistrements ont été réalisés avec des boutures de Cabernet Sauvignon au stade 10 feuilles dont le substrat de culture est maintenu humide.

## 2. Enregistrements

Le dispositif expérimental utilisé est celui mis au point par Tjallingii (1985). Les enregistrements ont été réalisés grâce à un système d'EPG en courant continu (Giga-8 ; EPG system, Wageningen, Pays-Bas). Les insectes, les plantes, les électrodes et l'amplificateur primaire étaient isolés du bruit de fond électrique par une cage de Faraday (Fig. 64). Les signaux électriques captés par les électrodes ont ensuite été amplifiés puis convertis en signaux numériques via le système d'acquisition Di710-UL (Dataq, Akron, USA), puis visualisés et enregistrés sur un ordinateur grâce au logiciel Probe 3.5 (EPG system, Wageningen, Pays-Bas). L'ensemble du dispositif est disposé dans une pièce climatisée afin de maintenir une température constante ( $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

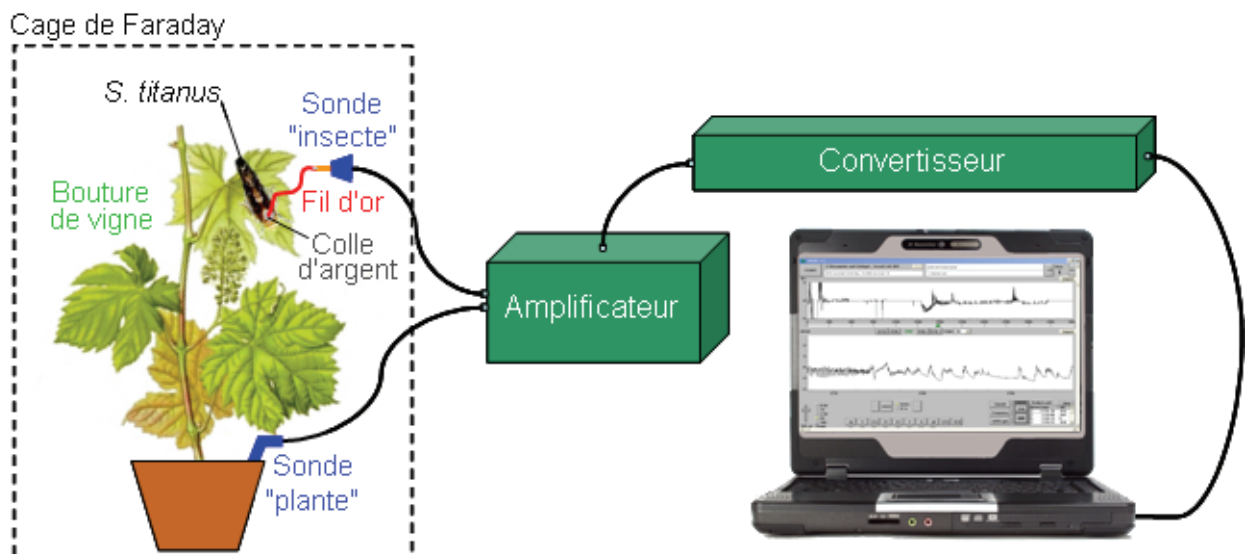
Les cicadelles sont prélevées dans leur cage d'élevage puis disposées individuellement dans des boîtes de Petri ( $\text{Ø } 8,5 \text{ cm}$ ) et entreposées à  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  pendant 15 min afin de les calmer et d'en faciliter la manipulation. Les boîtes sont ensuite disposées sur un lit de glace jusqu'à la mise en place du fil d'or sur l'insecte. Pendant cette opération, l'insecte est maintenu immobile à l'extrémité d'un embout en plastique par une légère aspiration (dispositif mis au point par N. Sauvion). Sous une loupe binoculaire (M 7 ; Wild Heerbrugg, Gais, Suisse), une extrémité d'un fil d'or ( $\text{Ø } 18,5 \text{ }\mu\text{m}$ ) d'environ 5 cm est fixée sur le pronotum de l'insecte à l'aide d'une goutte de colle d'argent (EPG system, Wageningen, Pays-Bas). Une fois l'insecte connecté, l'autre extrémité est reliée à l'extrémité en cuivre d'une électrode, toujours à l'aide de la colle d'argent. L'électrode est ensuite insérée dans la sonde EPG, et l'insecte déposé sur la plante. Enfin, une deuxième électrode en cuivre (5 cm,  $\text{Ø } 2 \text{ mm}$ ) est enfoncée dans le substrat de culture de la bouture.

Les enregistrements, d'une durée de 4 h, ont été réalisés simultanément sur quatre boutures hébergeant chacune un adulte. Une observation visuelle du comportement des insectes a été réalisée simultanément afin de mieux corrélérer les signaux observés avec le comportement des insectes. Quinze individus des deux sexes ont été utilisés pour la caractérisation des signaux et 30 mâles et 30 femelles ont été utilisés pour l'expérimentation de comparaison des deux sexes.

### 3. Analyse des signaux

Une fois les enregistrements effectués, les signaux ont été analysés à l'aide du logiciel Probe 3.5. Les signaux caractéristiques retenus ont été observés pour plusieurs insectes et plusieurs fois pour un même individu. Ces "signaux caractéristiques" ont ensuite été comparés à ceux décrits dans la littérature et aux connaissances générales sur le comportement des insectes piqueurs-suceurs. Une description fine des signaux d'EPG nécessite la mise en œuvre de stylectomie et d'observations de coupes ultrafines de feuilles au microscope électronique. Ce travail s'est donc focalisé sur des séquences comportementales primordiales dans la vocation et dont la reconnaissance est relativement aisée sans avoir recours à des techniques aussi lourdes. Les signaux retenus sont ceux correspondant à l'ingestion active de xylème, à l'ingestion passive de phloème et à la salivation. Pour les mêmes raisons, les différentes phases qui peuvent être observées au sein du phloème n'ont pas été dissociées.

Les critères retenus pour comparer le comportement alimentaire des femelles et des mâles dans leur rapport à la vocation sont le nombre de signaux correspondant au xylème, au phloème et à de la salivation, leur durée moyenne ainsi que leur durée totale.



**Figure 64.** Dispositif d'EPG utilisé pour l'enregistrement de l'activité alimentaire de *S. titanus* sur bouture de vigne.

### 4. Statistiques

Les paramètres considérés pour la comparaison du comportement alimentaires des mâles et des femelles ont été analysés grâce à un test de Mann Whitney.

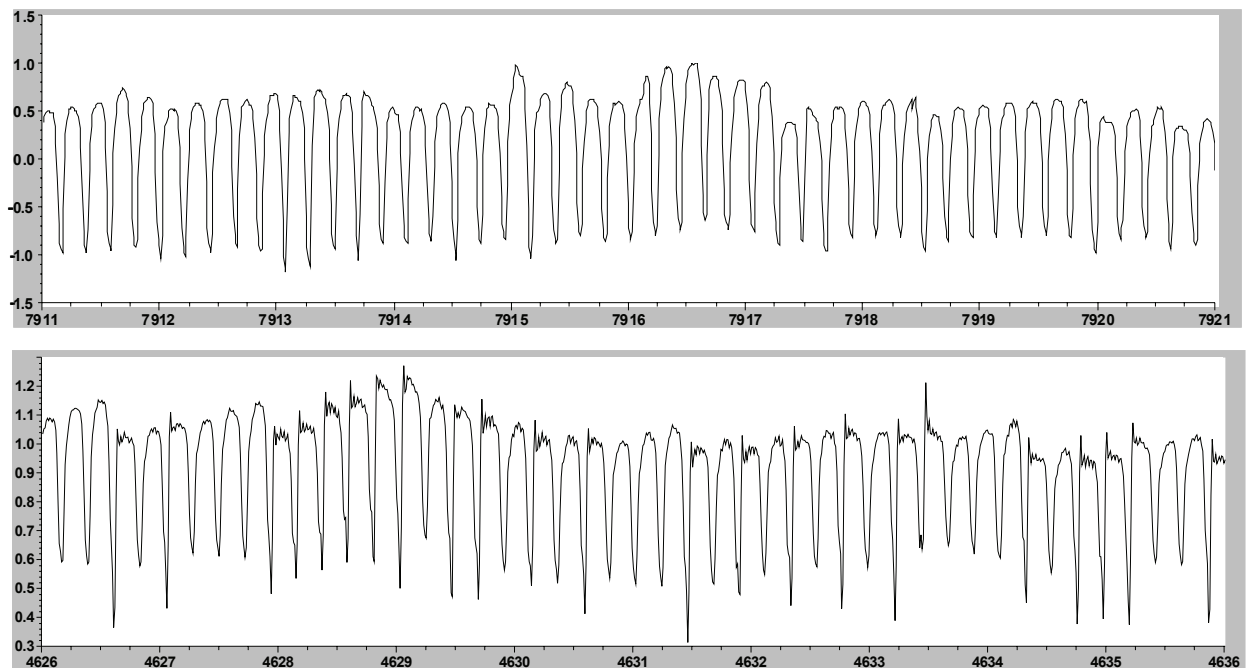
L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel de statistique R 2.8.1 (R Development Core Team 2007).

## C. Résultats

### 1. Caractérisation des signaux enregistrés en EPG

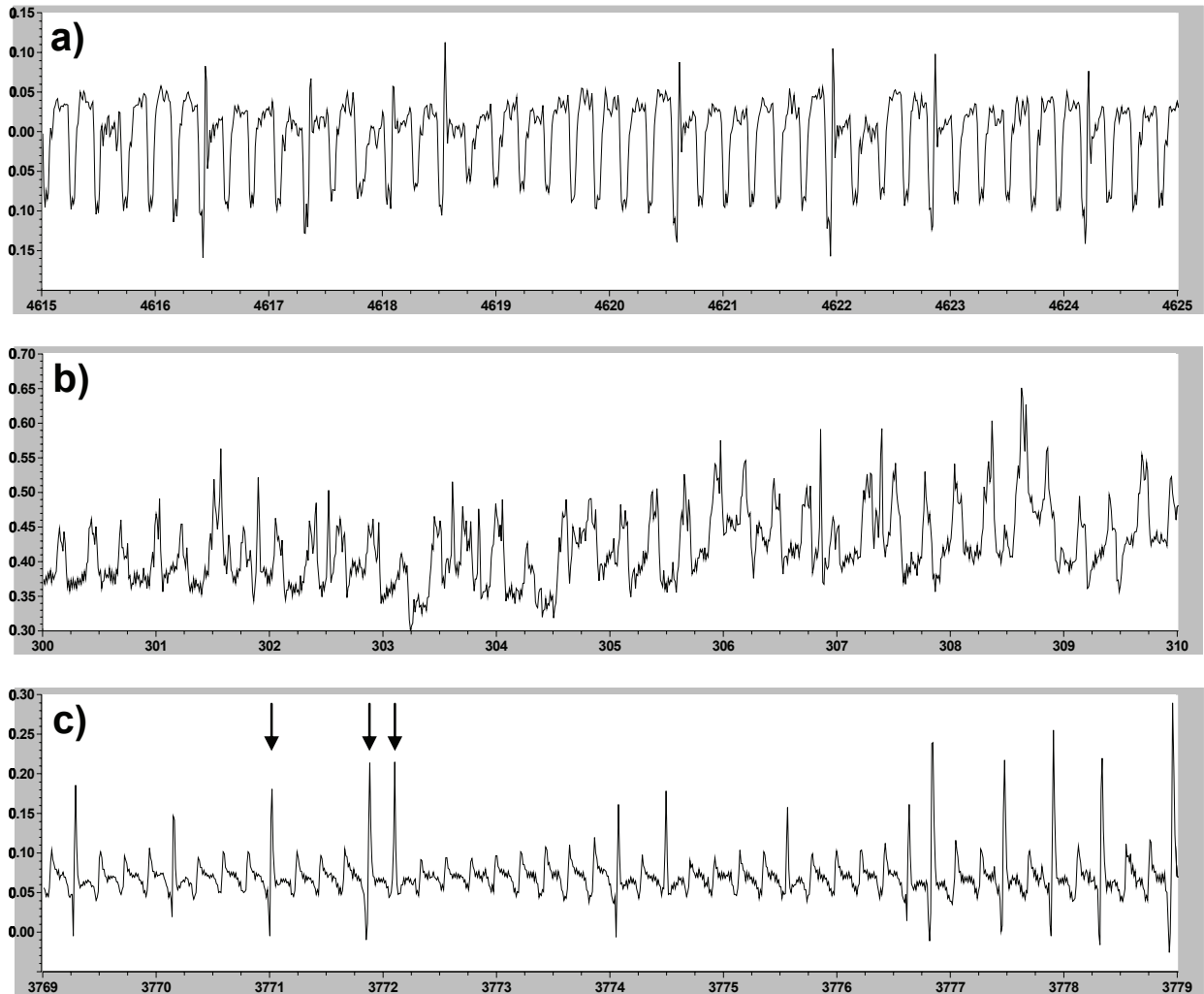
#### a) Xylème

Les profils correspondant à une phase xylémienne du processus d'alimentation sont caractérisés par des signaux de grande amplitude, généralement supérieurs à 0,5 mV et fréquemment supérieurs à 1 mV (Fig. 65). Ce type de signal très régulier et de grande amplitude est analogue à ceux observés chez d'autres cicadelles vectrices comme *Cicadulina mbila* sur maïs (Lett *et al.* 2001) et *Circulifer tenellus* sur betterave à sucre (Stafford & Walker 2009), *Bucephalagonia xanthophis* sur orangers (Miranda *et al.* 2009), *Empoasca vitis* sur thé (Jin & Baoyu 2007), ainsi qu'avec la cochenille *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) sur vigne (Cid & Fereres 2010).



**Figure 65.** Phases xylémiennes d'ingestion (active). L'axe des abscisses représente le temps (en s), celui des ordonnées la variation de potentiel (en mV).

## b) Phloème



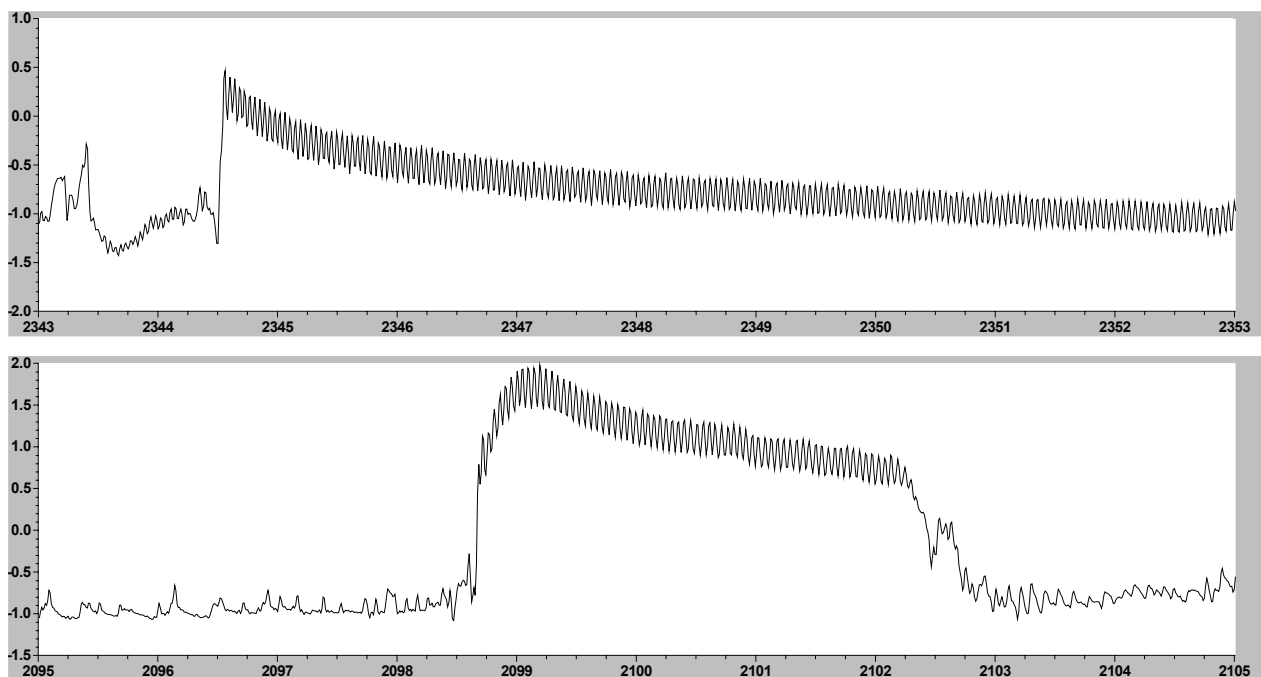
**Figure 66.** Phases phloémiennes d'ingestion (passive). L'axe des abscisses représente le temps (en s), celui des ordonnées la variation de potentiel (en mV).

Les enregistrements traduisant une ingestion de phloème ont des profils variables. Cependant, ils ont tous en commun une faible amplitude moyenne (inférieure à 50 mV), une succession assez régulière du même signal, mais moins que celle du xylème (Fig. 66). La faible amplitude des signaux liés au phloème a été décrite chez plusieurs cicadelles (Wayadande & Nault 1996; Lett *et al.* 2001; Jin & Baoyu 2007; Stafford & Walker 2009). La variation de forme des signaux observés peut en partie être expliquée par les différentes activités se déroulant dans le phloème (Stafford & Walker 2009), ainsi que par le mode d'ingestion du phloème. Ainsi les signaux a et b de la figure 66 correspondent respectivement aux signaux E et F décrits par Lett *et al.* (2001) chez *C. mbila*. Cette variation de signal est expliquée par une diminution de la pression dans la cellule phloémienne permettant un temps d'ouverture de la valve précibariale plus important. Il est aussi fréquent d'observer des signaux réguliers entrecoupés de pics

distribués irrégulièrement (Fig. 66c, indiqués par des flèches). Ce type de profil a été observé lors de l'ingestion active de phloème (Triplehorn *et al.* 1984; Stafford & Walker 2009).

### c) Salivation

Les signaux correspondant au phloème et au xylème peuvent être interrompus par un profil de faible amplitude mais de fréquence élevée, précédé par une augmentation rapide de potentiel (Fig. 67). Ces signaux ont été observés lors de la prise alimentaire des cicadelles *Homalodisca coagulata* dans le xylème de vigne (Backus *et al.* 2005) et *Circulifer tenellus* dans le phloème de betterave (Stafford & Walker 2009) et ont été respectivement attribués et corrélés à une phase de salivation.

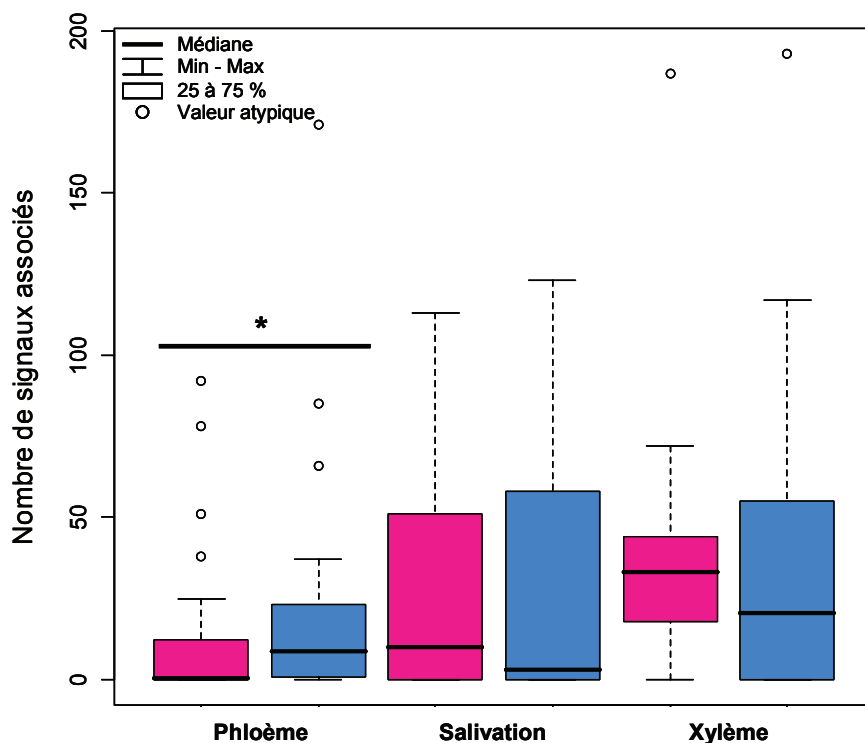


**Figure 67.** Phases de salivation. L'axe des abscisses représente le temps (en s), celui des ordonnées la variation de potentiel (en mV).

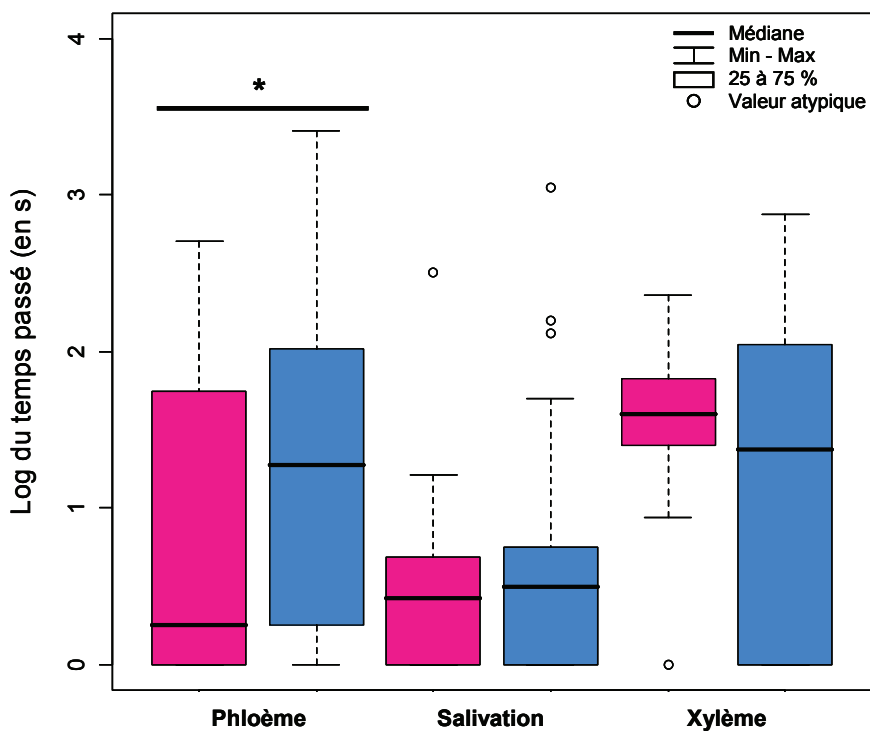
## 2. Comparaison du comportement alimentaire des mâles et des femelles en lien avec le potentiel de vection

Les mâles et les femelles n'ont pas le même comportement alimentaire. Si le nombre de phases ainsi que les temps moyens et totaux ne sont pas différents concernant les phases de salivation (respectivement  $U = 458,5$  ; 444 et 435 ;  $p > 0,05$ ) et xylémiennes (respectivement  $U = 550$  ; 538 et 515 ;  $p > 0,05$  ; Fig. 68, 69 et 70), il n'en est pas de même pour les phases phloémiennes. En effet, les mâles présentent significativement plus de phases phloémiennes que les femelles ( $U = 309$  ;  $p < 0,05$ ). De plus, la durée moyenne de chaque phase, ainsi que le

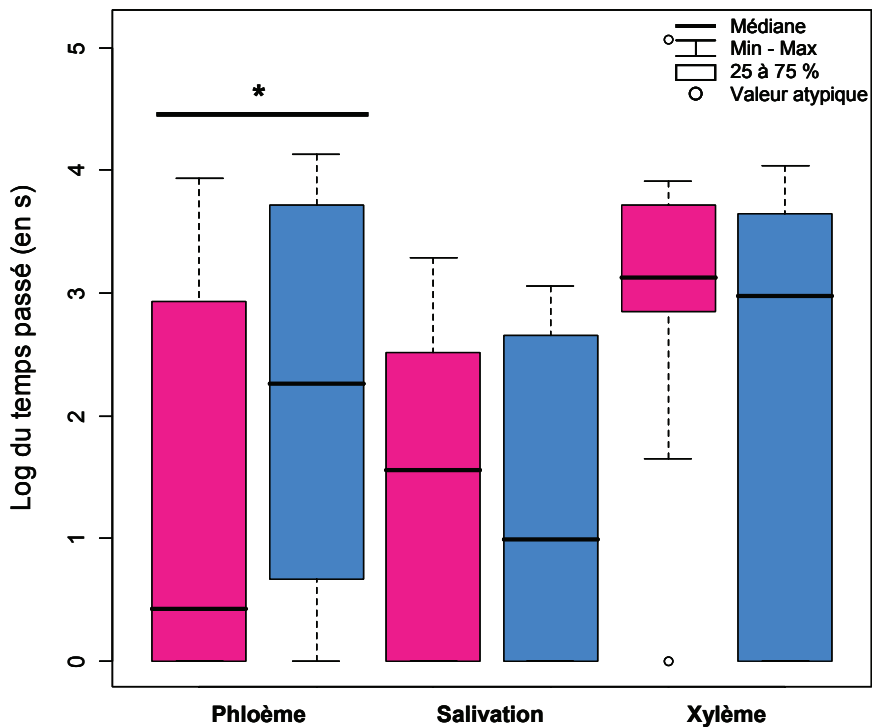
temps total passé en phase xylémienne sont supérieures pour les mâles (respectivement U = 319 et 310 ;  $p < 0,05$ ).



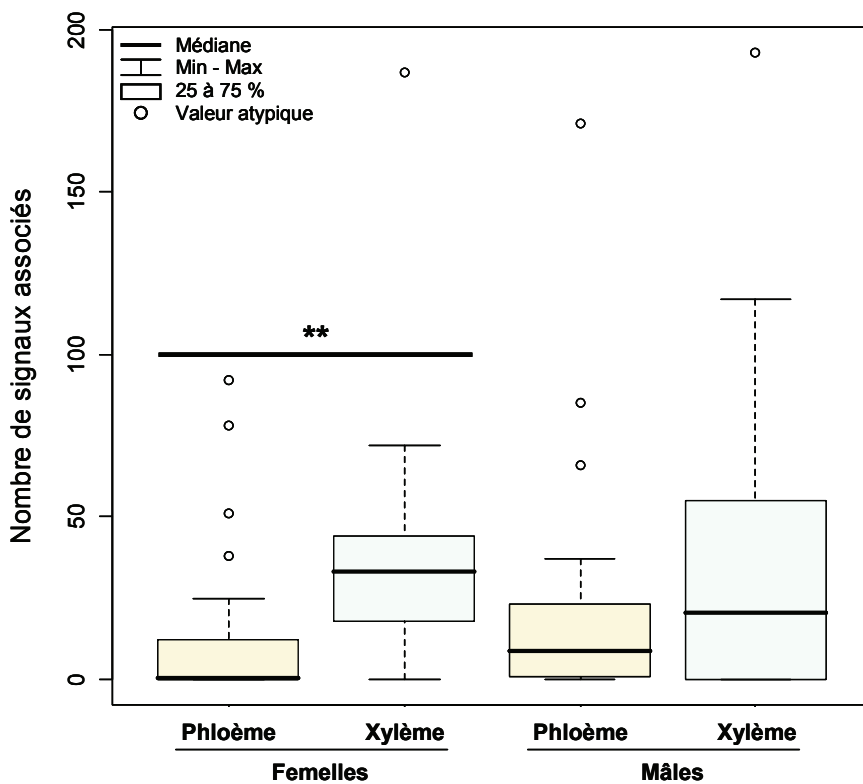
**Figure 68.** Nombre de signaux associés au phloème, au xylème et à la salivation pour les mâles (en bleu) et les femelles (en rose). \* :  $p < 0,05$ .



**Figure 69.** Temps moyen passé en phase phloémienne, xylémienne ou en salivation pour les mâles (en bleu) et les femelles (en rose). \* :  $p < 0,05$ .

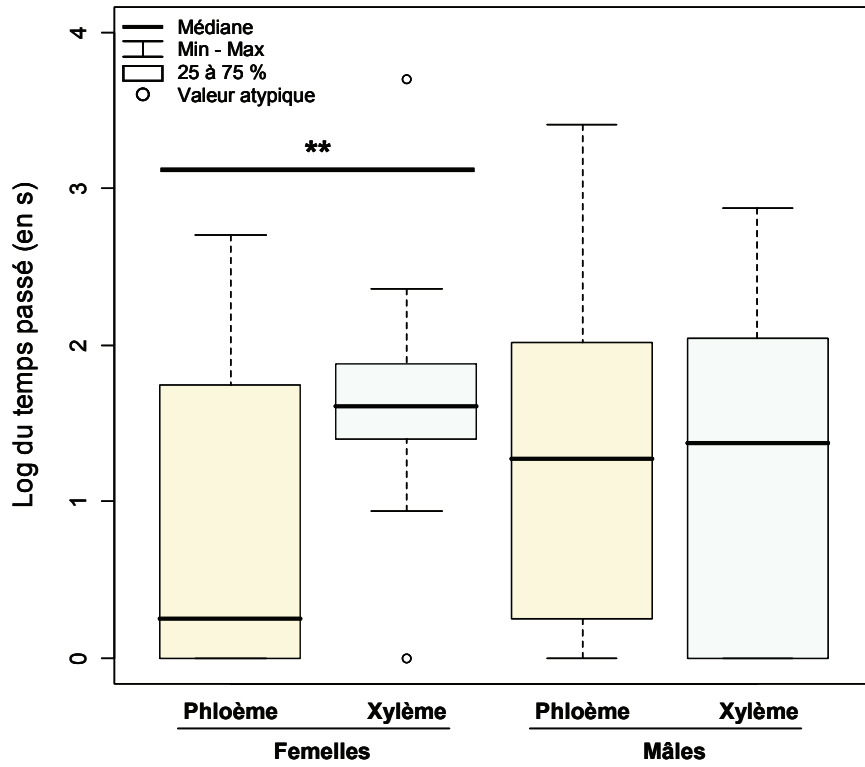


**Figure 70.** Temps total passé en phase phloémienne, xylémienne ou en salivation pour les mâles (en bleu) et les femelles (en rose). \* :  $p < 0,05$ .

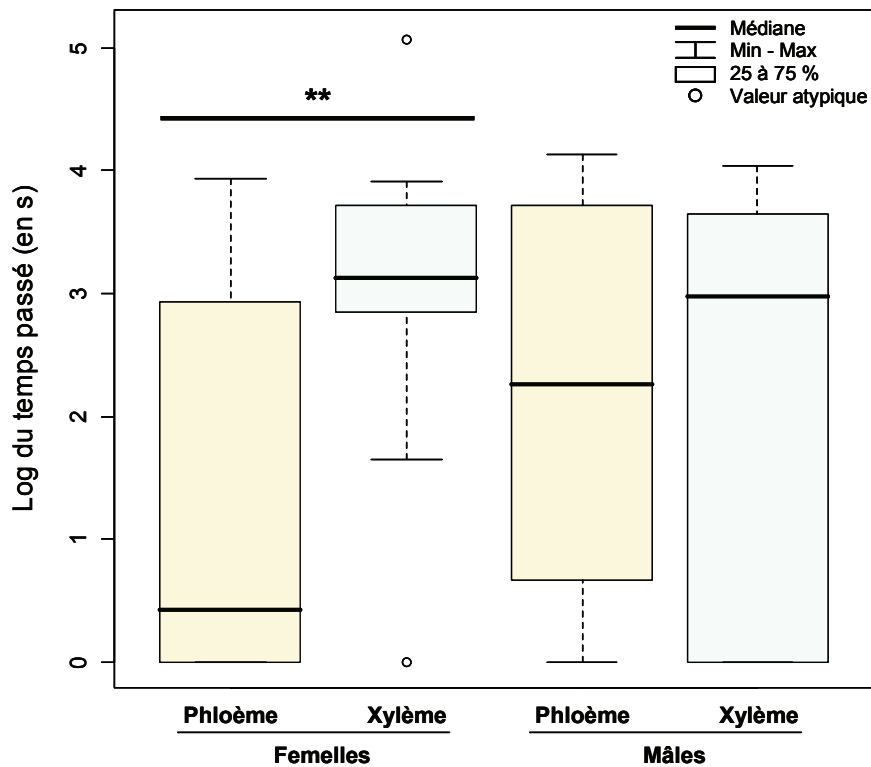


**Figure 71.** Comparaison du nombre de signaux associés au phloème et au xylème pour les mâles et les femelles. \*\* :  $p < 0,01$





**Figure 72.** Comparaison du temps moyen passé en phase phloémienne et xylémienne pour les mâles et les femelles. \*\*:  $p < 0,01$ .



**Figure 73.** Comparaison du temps total passé en phase phloémienne et xylémienne pour les mâles et les femelles. \*\*:  $p < 0,01$ .

Les mâles ne montrent pas de préférence entre le phloème et le xylème puisque pour les trois paramètres mesurés : nombre de signaux, temps moyen et total passé dans chaque phase, il n'y a pas de différence significative (respectivement  $W = 159 ; 238$  et  $198 ; p > 0,05$  ; Fig. 71, 72 et 73). En revanche, les femelles présentent une plus grande activité en phase xylémienne, que ce soit au niveau du nombre de signaux ( $W = 89,5 ; p < 0,01$ ), du temps moyen de chaque phase ( $W = 98 ; p < 0,01$ ) ou du temps total passé dans le compartiment phloémien ( $W = 102 ; p < 0,01$ ) (Fig. 71, 72 et 73).

## D. Discussion

### 1. *Scaphoideus titanus* n'est pas un phloémophage strict

*Scaphoideus titanus*, en particulier de par son rôle de vecteur de phytoplasme, a été généralement considéré comme un insecte phloémophage. Cependant, la réalisation de coupes de pétioles par Carle et Moutous (1965) ont montré que si les gaines sétales débouchaient principalement dans les vaisseaux conducteurs, les fréquences de terminaison dans le xylème et le phloème étaient similaires. Cette information peut seulement suggérer une alimentation mixte phloème / xylème de *S. titanus*. En effet, le fait que les stylets atteignent le xylème ne signifie pas obligatoirement que l'insecte effectue des prélèvements de sève ni ne permet de les quantifier. Les piqûres xylémiennes peuvent, par exemple, être destinées à goûter la sève sans préjuger du comportement subséquent de la cicadelle. Une étude anatomique et immunologique a ensuite révélée l'existence d'une chambre filtrante nettement différenciée, ainsi que de protéines proches des aquaporines qui sont caractéristiques des insectes xylémophages (LeCaherec *et al.*, 1997). **Les résultats obtenus par l'utilisation pour la première fois de la technique d'EPG sur *S. titanus* permettent de confirmer que cette cicadelle s'alimente également de xylème.** En effet, les mâles n'ont pas montré de préférence entre phloème et xylème et les femelles ont eu une plus grande activité en phase xylémienne. Ce comportement alimentaire est intrigant puisque l'on peut se demander quel intérêt peut avoir un phloémophage à s'alimenter dans le xylème qui présente une qualité nutritive, autant au niveau des composés carbonnés qu'azotés, bien inférieure à celle du phloème (Mattson 1980) et qui nécessite donc des taux d'alimentation très élevés (Andersen *et al.* 1989; Brodbeck *et al.* 1993). De plus, la sève xylémienne est sous une tension négative que l'insecte doit contrecarrer pour pouvoir s'alimenter, ce qui est très coûteux énergétiquement (Novotny & Wilson 1997). Ceci est particulièrement vrai pour les Auchenorrhyncha de petite taille puisque les coûts métaboliques d'extraction du xylème diminuent avec la taille de l'insecte

(Redak *et al.* 2004). On sait que des phloémophages peuvent s'alimenter de xylème afin de se réhydrater (Ramírez & Niemeyer 2000; Powell & Hardie 2002; Cid & Fereres 2010). L'ingestion de xylème peut aussi être une stratégie de réponse au stress osmotique de l'hémolymphe induit par une déshydratation (Pompon *et al.* 2010). Les *S. titanus* utilisés dans les expérimentations d'EPG n'avaient pas été mis à jeûner au préalable et étaient alimentés sur des boutures bien irriguées et ne devaient donc pas se trouver particulièrement déshydratés. La consommation de xylème est aussi observée chez des insectes hydratés et doit donc avoir d'autres fonctions (Pompon *et al.* 2010). Le transport symplastique du phloème a pour conséquence une impossibilité de transport ou une faible mobilité de certains éléments, en particulier des protons (calcium, sodium...) ou le bore. Ces microéléments peuvent avoir des effets positifs sur le développement des pucerons (Auclair & Srivastava 1972) ainsi que sur la fécondité des femelles phytophages en général (Awmack & Leather 2002), ce qui pourrait être une explication à la plus grande consommation de xylème par les femelles *S. titanus*.

L'observation de longues séquences de phases xylémiennes lors de l'alimentation d'un phloémophage, comme ce qui a été observé pour *S. titanus*, survient lorsqu'un insecte s'alimente sur une espèce de plante non préférée (Lei *et al.* 2001) ou une variété résistante (Hu *et al.* 2008; Crompton & Ode 2010). Les résultats obtenus avec *S. titanus* pourraient donc être également la conséquence de l'utilisation de boutures de Cabernet Sauvignon ne représentant pas un cépage optimal, même si ce cépage semble procurer une fitness élevée aux individus s'en alimentant (obs. pers.).

## **2. Les mâles et les femelles n'ont pas le même comportement alimentaire**

Les différences de comportement alimentaire observées entre les mâles et les femelles peuvent avoir des conséquences importantes en termes de capacité de vection. L'inoculation par un vecteur de pathogènes du phloème se fait dès le début de la phase phloémienne, lors de la salivation précédant l'ingestion de phloème (Wayadande & Nault 1993; Prado & Tjallingii 1994; Jiang *et al.* 2000; Johnson *et al.* 2002). C'est au cours de l'ingestion de la sève phloémienne que l'acquisition du pathogène a lieu (Limburg *et al.* 1997). La fréquence d'insertion de ses stylets par un vecteur est donc un facteur important dans la probabilité d'acquisition et de transmission d'un pathogène. La durée de la phase d'ingestion de phloème est aussi essentielle, puisque l'efficacité de l'acquisition augmente avec la longueur de cette phase (Prado & Tjallingii 1994). Or, les mâles *S. titanus* piquent plus souvent le phloème et s'alimentent en moyenne plus longtemps que les femelles. Ces résultats sont soutenus par une étude de Carle & Moutous (1965) qui montrait

que les pourcentages de terminaison des gaines sétales dans les vaisseaux conducteurs de pétioles de vigne entre xylème et phloème étaient plus proches pour les mâles (N = 38 ; respectivement 52,63 % et 47,37 %) que pour les femelles (N = 33 ; respectivement 60,61 % et 39,39 %). Ces caractéristiques peuvent en partie expliquer que les meilleurs taux de transmission de phytoplasmes sont obtenus avec les mâles (Schvester *et al.* 1969; Maixner *et al.* 1993).

L'alimentation de *S. titanus* dans le xylème fait de cette cicadelle un vecteur potentiel de pathogènes du xylème comme de la bactérie *Xylella fastidiosa* que l'on retrouve sur différentes plantes, dont la vigne (aux Etats-Unis), et qui est transmise par 39 espèces de Cicadellidae (Redak *et al.* 2004).

### 3. Apport de ces connaissances dans l'épidémiologie de la FD

Le développement de la technique d'EPG dans l'étude du comportement alimentaire de *S. titanus* est la première étape dans l'utilisation de cette technique pour l'étude des processus d'acquisition et de transmission du phytoplasme. Il constitue également la première étape de l'utilisation de l'EPG comme outil de "screening" de matériel végétal résistant au vecteur de la FD, que ce soit des cépages différents ou des clones d'une même variété. Cette technique pourrait également être utilisée pour tester des antiappétants (Ameline *et al.* 2010). Par exemple, l'utilisation de l'EPG permettrait de pouvoir discerner dans la sensibilité des différents cépages, la part due au comportement de piqûre de l'insecte et celle liée à la sensibilité intrinsèque de la plante. On disposerait alors d'une classification cohérente du degré de sensibilité des différentes variétés qui permettrait de mieux ajuster la lutte contre la FD.

Si l'utilisation de l'EPG comme outil de "screening" est utilisable immédiatement, l'étude fine du comportement alimentaire de *S. titanus* nécessitera de coupler cette technique à de la stylectomie et de la microscopie afin de pouvoir identifier l'ensemble des signaux obtenus (Prado 1997).

# **CONCLUSION**

Ce travail de thèse a permis d'apporter une contribution à l'étude de la biologie et de l'écologie de *S. titanus* mais aussi des connaissances plus générales sur l'écologie des insectes phytophages. Il permet également d'apporter des éléments sur lesquels construire des pistes alternatives à la lutte contre le vecteur de la FD dans le cadre d'une réduction des intrants.

Les résultats des expérimentations menées sur l'importance des températures hivernales sur la diapause ont mis en évidence que, contrairement à ce qui était communément admis, le froid n'est pas indispensable à la sortie de diapause, même s'il régule la dynamique d'éclosion et cela de manière différentielle pour les deux sexes. En effet, le froid semble être un signal utilisé à la fois par la plante et l'insecte pour reprendre leur développement. La réponse de la vigne et celle de *S. titanus* aux températures permettent une bonne synchronisation du débourrement des bourgeons et des éclosions. Cependant, il semblerait que tous les œufs n'aient pas la même sensibilité aux températures, ce qui pourrait constituer une stratégie de type "bet-hedging". La différence de sensibilité au froid entre les œufs mâles et femelles est très intéressante puisqu'elle affecte le sex-ratio opérationnel et contribue à expliquer la protandrie chez *S. titanus*. Notre hypothèse est qu'elle pourrait avoir été maintenue par la sélection naturelle. Il s'agit de la première observation d'un tel phénomène chez un insecte. Les températures auxquelles sont exposés les œufs ont aussi une influence sur le développement post-éclosion, ce qui n'avait jamais été décrit chez un insecte. Les œufs exposés aux températures les plus élevées donnent des individus plus grands, plus lourds et avec un temps de développement plus court, contrairement au "trade-off" généralement observé entre le temps de développement des juvéniles et la taille des adultes.

La reconnaissance à distance de sa plante hôte par *S. titanus* ne semble pas faire intervenir l'olfaction même si celle-ci pourrait avoir une implication dans la fixation de la cicadelle sur son site d'alimentation. L'aspect visuel de la ressource, notamment sa couleur, doit au contraire avoir un rôle primordial. Il pourrait être impliqué dans la plus grande attractivité exercée par les plantes FD par rapport aux plantes saines. Cependant, la présence de phytoplasmes doit induire d'autres changements dans la plante qui pourraient modifier le comportement du vecteur. L'attractivité des plantes hôtes est également variable en fonction du stade de développement de l'insecte.

Les résultats obtenus par la technique d'EPG, que nous avons adapté à *S. titanus*, permettent de confirmer que cette cicadelle n'est pas strictement phloémophage mais s'alimente également de xylème. De plus, cette technique a permis de mettre en évidence des différences de comportement alimentaire entre mâles et femelles pouvant en partie expliquer les meilleurs taux de transmission de phytoplasmes habituellement obtenus avec les mâles.

Les résultats des tests d'agrégation démontrent que la répartition agrégative des larves observée en vignoble peut résulter du comportement propre des larves. Cette agrégation apparaît liée à des différences d'attractivité entre plantes ou entre organes au sein d'une même plante. Elle ne semble pas nécessiter la production de stimuli attractifs de la part des congénères, qu'ils soient de nature olfactifs ou vibratoires.

Les résultats obtenus au cours de cette thèse apportent des connaissances permettant une meilleure compréhension de la FD. Elles peuvent servir de base à une amélioration des techniques de lutte actuelle, voire au développement d'autres méthodes.

Ainsi, la prise en compte des températures hivernales dans la détermination des dates de traitements contre *S. titanus* permettrait d'ajuster au mieux le positionnement des applications d'insecticides.

La bonne connaissance des paramètres liés à l'épidémiologie de la maladie est essentielle, notamment dans la conception de modèles de prévision de risques. Dans cette optique, un modèle intégrant les températures hivernales permettrait d'estimer les zones viticoles susceptibles d'être colonisées par le vecteur, ainsi que le risque de propagation de la FD, en prévoyant le degré de synchronisation du tryptique *S. titanus* / *V. vinifera* / 'Ca. Phytoplasma vitis'. L'évaluation du risque de dissémination de la FD devrait aussi tenir compte de l'agrégation des larves dans les processus d'acquisition du phytoplasme et de la proportion de vecteurs infectieux, mais également de la plus grande attractivité des plantes atteintes de FD et des différences de comportement entre larves et adultes.

Les résultats des tests de choix réalisés avec des applications de kaolin ouvrent des perspectives sur l'utilisation de substances réfléchissant les UV comme moyen de lutte alternatif en lutte intégré, voire en agriculture biologique. Pour une plus grande efficacité, l'utilisation de tels traitements répulsifs pourraient être associés à des attractants dans une stratégie de type "push-pull" afin de concentrer les populations de vecteurs et de pouvoir appliquer des traitements plus ciblés et donc moins nocifs pour l'environnement. Les sites de concentrations de cicadelles pourraient être des *Vitis* américains qui sont préférés à *V. vinifera* par *S. titanus* ou des ceps de vigne rendu plus attractifs par l'application de molécules attractives ou "fixantes". Dans cette dernière catégorie, il serait intéressant d'étudier le rôle de différentes kairomones d'origine végétale.

En fin, l'utilisation de la technique d'EPG comme outil de "screening" permettrait d'évaluer assez rapidement la capacité d'un cépage ou d'un clone à être résistant à *S. titanus* mais aussi de tester des antiappétants. L'EPG permettrait également de pouvoir discerner la part due au

comportement de piqûre de l'insecte de celle liée à la sensibilité intrinsèque de la plante dans les phénomènes de sensibilité / résistance des différents cépages à la FD.

En plus de ces résultats, comme tout travail de recherche, cette thèse aura apportée son lot de questions. Parmi celles-ci, trois pistes de recherches me semblent importante à développer.

La première concerne les relations entre *S. titanus* et le phytoplasme de la FD et devrait s'attacher à explorer les changements induits par l'agent pathogène dans la plante et responsables de l'attraction du vecteur. Sachant que le phytoplasme colonise la plupart des organes du vecteur, dont le système nerveux central, il paraît primordial de vérifier s'il est capable d'affecter le comportement de *S. titanus* en vue d'accroître sa dissémination. Enfin, l'influence de l'agrégation des larves sur les taux d'acquisition et de dispersion, ainsi que sur la possibilité d'un "transfert horizontal" *via* la plante hôte, devrait être étudiée.

La deuxième piste de recherche vise à développer l'utilisation de l'outil EPG. Si l'utilisation de cette technique comme outil de "screening" est utilisable immédiatement, l'étude fine du comportement alimentaire de *S. titanus*, en la couplant avec de la stylectomie et de la microscopie électronique, permettrait de mieux connaître les caractéristiques des différents paramètres liés à la prise alimentaire (nombre de piqûres, tissus explorés, durée et enchaînement des différentes phases...), et donc à la vection.

Le troisième axe de recherches devrait s'intéresser au statut de non phloémophage strict de *S. titanus* et déboucher sur deux questions qui nous paraissent importantes : 1) Quel intérêt a un phloémophage de ponctionner du xylème ? et, 2) *S. titanus* est-il capable de vector des pathogènes du xylème, par exemple *X. fastidiosa* ?





**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- Aldrich, Jr. (1988) Chemical ecology of the Heteroptera. *Annual Review of Entomology*. **33**: 211-238.
- Alla, S., Malosse, C., Cassel, S., Rollin, P. & Frerot, B. (2002) La mévalonolactone : un composé volatil produit par *Psammotettix alienus* (Dhb). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Biologie*. **325**: 941-946.
- Alma, A., Bosco, D., Danielli, A., Bertaccini, A., Vibio, M. & Arzone, A. (1997) Identification of phytoplasmas in eggs, nymphs and adults of *Scaphoideus titanus* Ball reared on healthy plants. *Insect Molecular Biology*. **6**: 115-121.
- Alma, A., Marzachi, C., D'aquilio, M. & Bosco, D. (2000) Cyclamen (*Cyclamen persicum* L.): a dead-end host species for 16Sr-IB and -IC subgroup phytoplasmas. *Annals of Applied Biology*. **136**: 173-178.
- Alma, A., Palermo, S., Boccardo, G. & Conti, M. (2001) Transmission of *Chrysanthemum* yellows, a subgroup 16SrI-B phytoplasma, to grapevine by four leafhopper species. *Journal of Plant Pathology*. **83**.
- Almeida, R.P.P. & Backus, E.A. (2004) Stylet Penetration Behaviors of *Graphocephala atropunctata* (Signoret) (Hemiptera, Cicadellidae): EPG Waveform Characterization and Quantification. *Annals of the Entomological Society of America*. **97**: 838-851.
- Altieri, M.A. & Nicholls, C.I. (2002) The simplification of traditional vineyard based agroforests in northwestern Portugal: some ecological implications. *Agroforestry Systems*. **56**: 185-191.
- Ambrozic-Dolinsek, J., Camloh, M., Zel, J., Kovac, M., Ravnkar, M., Carraro, L. & Petrovic, N. (2008) Phytoplasma infection may affect morphology, regeneration and pyrethrin content in pyrethrum shoot culture. *Scientia Horticulturae*. **116**: 213-218.
- Ameline, A., Couty, A., Dugravot, S., Campan, E., Dubois, F. & Giordanengo, P. (2007) Immediate alteration of *Macrosiphum euphorbiae* host plant-selection behaviour after biotic and abiotic damage inflicted to potato plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **123**: 129-137.
- Ameline, A., Couty, A., Martoub, M., Sourice, S. & Giordanengo, P. (2010) Modification of *Macrosiphum euphorbiae* colonisation behaviour and reproduction on potato plants treated by mineral oil. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **135**: 77-84.
- Andersen, P.C., Brodbeck, B.V. & Mizell, R.F. (1989) Metabolism of amino acids, organic acids and sugars extracted from the xylem fluid of four host plants by adult *Homalodisca coagulata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **50**: 149-159.
- Anderson, M.J. (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*. **26**: 32-46.
- Anderson, R.A., Knols, B.G.J. & Koella, J.C. (2000) *Plasmodium falciparum* sporozoites increase feeding-associated mortality of their mosquito hosts *Anopheles gambiae* s.l. *Parasitology*. **120**: 329-333.
- Andret-Link, P., Schmitt-Keichinger, C., Demangeat, G., Komar, V. & Fuchs, M. (2004) The specific transmission of Grapevine fanleaf virus by its nematode vector *Xiphinema* index is solely determined by the viral coat protein. *Virology*. **320**: 12-22.
- Angelini, E., Clair, D., Borgo, M., Bertaccini, A. & Boudon-Padieu, E. (2001) "Flavescence dorée" in France and Italy - Occurrence of closely related phytoplasma isolates and their near relationships to Palatinate grapevine yellows and an alder phytoplasma. *Vitis*. **40**: 79-86.
- Angelini, E., Negrisol, E., Clair, D., Borgo, M. & Boudon-Padieu, E. (2003) Phylogenetic relationships among Flavescence doree strains and related phytoplasmas determined by heteroduplex mobility assay and sequence of ribosomal and nonribosomal DNA. *Plant Pathology*. **52**: 663-672.
- Angelini, E., Squizzato, F., Lucchetta, G. & Borgo, M. (2004) Detection of a phytoplasma associated with grapevine Flavescence doree in *Clematis vitalba*. *European Journal of Plant Pathology*. **110**: 193-201.

- Angilletta, M.J., Steury, T.D. & Sears, M.W. (2009) Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. *Integrative and Comparative Biology*. **44**: 498-509.
- Antignus, Y. (2000) Manipulation of wavelength-dependent behaviour of insects: an IPM tool to impede insects and restrict epidemics of insect-borne viruses. *Virus Research*. **71**: 213-220.
- Antignus, Y., Nestel, D., Cohen, S. & Lapidot, M. (2001) Ultraviolet-deficient greenhouse environment affects whitefly attraction and flight-behavior. *Environmental Entomology*. **30**: 394-399.
- Applebaum, S.W. & Heifetz, Y. (1999) Density-dependent physiological phase in insects. *Annual Review of Entomology*. **44**: 317-341.
- Araya, T., Noguchi, K. & Terashima, I. (2006) Effects of carbohydrate accumulation on photosynthesis differ between sink and source leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Cell Physiology*. **47**: 644-652.
- Arnaud, G., Malembic-Maher, S., Salar, P., Bonnet, P., Maixner, M., Marcone, C., Boudon-Padieu, E. & Foissac, X. (2007) Multilocus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct flavescence doree phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Applied and Environmental Microbiology*. **73**: 4001-4010.
- Arruda, I.C., Ventura, M.U. & Scarminio, I.S. (2005) Feeding and arrestment responses of *Diabrotica speciosa* to cucurbitacin-content formulations. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. **40**: 639-643.
- Ashford, D.A., Smith, W.A. & Douglas, A.E. (2000) Living on a high sugar diet: the fate of sucrose ingested by a phloem-feeding insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology*. **46**: 335-341.
- Assad, Y.O.H., Hassanali, A., Torto, B., Mahamat, H., Bashir, N.H. & Bashir, S.E. (1997) Effects of fifth-instar volatiles on sexual maturation of adult desert locust *Schistocerca gregaria*. *Journal of Chemical Ecology*. **23**: 1373-1388.
- Atauri, I.G.D.C., Brisson, N., Seguin, B., Gaudillere, J.P. & Baculat, B. (2005) Simulation of budbreak date for vine. The BRIN model. Some applications in climate change study. *XIV International GESCO Viticulture Congress, Geisenheim, Germany, 23-27 August, 2005*. 485-490.
- Auclair, J.L. & Srivastava, P.N. (1972) Some mineral requirements of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae). *The Canadian Entomologist*. **104**: 927-936.
- Awmack, C.S. & Leather, S.R. (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*. **47**: 817-844.
- Backus, E.A., Habibi, J., Yan, F.M. & Eilersieck, M. (2005) Stylet penetration by adult *Homalodisca coagulata* on grape: Electrical penetration graph waveform characterization, tissue correlation, and possible implications for transmission of *Xylella fastidiosa*. *Annals of the Entomological Society of America*. **98**: 787-813.
- Baggiolini, M., Canevascini, V., Caccia, R., Tencalla, Y. & Sobrio, G. (1968) Présence dans le vignoble du Tessin d'une cicadelle néarctique nouvelle pour la Suisse, *Scaphoideus littoralis* Ball. (Hom., Jassidae), vecteur possible de la flavescence dorée. *Bulletin de la Société Entomologique Suisse*. **40**: 270-275.
- Banttari, E.E. & Zeyen, R.J. (1979) Interactions of mycoplasma-like organisms and viruses in dually infected leafhoppers, planthoppers and plants. *Leafhopper Vectors and Plant Disease Agents* (eds K. Maramorosch & K. Harris), pp. 327-347. New York: Academic.
- Bar-Joseph, M., Marcus, R. & Lee, R.F. (1989) The continuous challenge of citrus tristeza virus control. *Annual Review of Phytopathology*. **27**: 291-316.

- Barker, J.F. (1997) Oviposition by the banded sunflower moth (Lepidoptera: Cochyliidae) in response to constituents of the bracts and leaves of *Helianthus annuus*. *Journal of Economic Entomology*. **90**: 160-164.
- Barnett, D.E. (1976) A revision of the Nearctic species of the genus *Scaphoideus* (Homoptera: Cicadellidae). *Transactions of the American Entomological Society*. **102**: 485-593.
- Barton-Browne, L.B. (1964) Water regulation in insects. *Annual Review of Entomology*. **9**: 63-82.
- Beanland, L., Hoy, C.W., Miller, S.A. & Nault, L.R. (1999) Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) transmission of aster yellows phytoplasma: Does gender matter? *Environmental Entomology*. **28**: 1101-1106.
- Beanland, L., Hoy, C.W., Miller, S.A. & Nault, L.R. (2000) Influence of aster yellows phytoplasma on the fitness of aster leafhopper (Homoptera : Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America*. **93**: 271-276.
- Beanland, L., Noble, R. & Wolf, T.K. (2006) Spatial and temporal distribution of North American grapevine yellows disease and of potential vectors of the causal phytoplasmas in Virginia. *Environmental Entomology*. **35**: 332-344.
- Behmer, S.T. (2009) Insect herbivore nutrient regulation. *Annual Review of Entomology*. **54**: 165-187.
- Beirne, B.P. (1956) Leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) of Canada and Alaska. *Canadian Entomologist*. **88**: 1-180.
- Belli, G., Fortusini, A. & Rui, D. (1985) Recent spread of flavescence dorée and its vector in vineyards of Northern Italy. *Phytopathologia Mediterranea*. **24**: 189-191.
- Belli, G., Bianco, P.A. & Conti, M. (2010) Grapevine yellows in Italy: past, present and future. *Journal of Plant Pathology*. **92**: 303-326.
- Bernard, P. & Du Fretay, G. (1988) Dynamique de population de *Scaphoideus titanus*, vecteur de la Flavescence dorée dans l'Aude en 1987. *Bulletin Technique d'Information*. **433/434**: 457-464.
- Bernard, P., Du Fretay, G., Gorguou, M. & Tassart, V. (1988) Hypothèse d'une deuxième génération de *Scaphoideus titanus*. *La Défense des Végétaux*. **251**: 17-21.
- Bertaccini, A. & Duduk, B. (2009) Phytoplasma and phytoplasma diseases: a review of recent research. *Phytopathologia Mediterranea*. **48**: 355-378.
- Bertamini, M. & Nedunchezian, N. (2001) Effects of phytoplasma [stolbur-subgroup (Bois noir-BN)] on photosynthetic pigments, saccharides, ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase, nitrate and nitrite reductases, and photosynthetic activities in field-grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay) leaves. *Photosynthetica*. **39**: 119-122.
- Bertin, S., Guglielmino, C.R., Karam, N., Gomulski, L.M., Malacrida, A.R. & Gasperi, G. (2007) Diffusion of the Nearctic leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball in Europe: a consequence of human trading activity. *Genetica*. **131**: 275-285.
- Bi, J., Castle, S., Byrne, F., Tuan, S. & Toscano, N. (2005) Influence of seasonal nitrogen nutrition fluctuations in orange and lemon trees on population dynamics of the glassy-winged sharpshooter (*Homalodisca coagulata*). *Journal of Chemical Ecology*. **31**: 2289-2308.
- Bi, J., Castle, S. & Toscano, N. (2007) Amino acid fluctuations in young and old orange trees and their influence on glassy-winged sharpshooter (*Homalodisca vitripennis*) population densities. *Journal of Chemical Ecology*. **33**: 1692-1706.
- Bird, J.M. & Hodkinson, I.D. (2005) What limits the altitudinal distribution of *Craspedolepta* species (Sternorrhyncha: Psylloidea) on fireweed? *Ecological Entomology*. **30**: 510-520.
- Biron, D., Langlet, X., Boivin, G. & Brunel, E. (1998) Expression of early and late-emerging phenotypes in both diapausing and non-diapausing *Delia radicum* L. pupae. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **87**: 119-124.

- Bonani, J.P., Fereres, A., Garzo, E., Miranda, M.P., Appezzato-Da-Gloria, B. & Lopes, J.R.S. (2010) Characterization of electrical penetration graphs of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in sweet orange seedlings. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **134**: 35-49.
- Bonfils, J. & Schvester, D. (1960) Les cicadelles (Homoptera Auchenorrhyncha) dans leurs rapports avec la vigne dans le Sud-Ouest de la France. *Annales des Epiphyties*. **3**: 325-336.
- Booth, D.T. (2006) Influence of incubation temperature on hatchling phenotype in reptiles. *Physiological and Biochemical Zoology*. **79**: 274-281.
- Borgo, M., Filippin, L., Bertazzon, N. & Angelini, E. (2009) Detection of phytoplasmas associated with grapevine yellows in rootstocks. *Extended abstracts 16<sup>th</sup> Meeting of ICVG*. Le Progrès Agricole et Viticole. Hors série: 162-163, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009.
- Bosch, J. & Kemp, W.P. (2004) Effect of pre-wintering and wintering temperature regimes on weight loss, survival, and emergence time in the mason bee *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae). *Apidologie*. **35**: 469-479.
- Bosco, D., Alma, A. & Arzone, A. (1997) Studies on population dynamics and spatial distribution of leafhoppers in vineyards (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of Applied Biology*. **130**: 1-11.
- Boubals, D. & Caudwell, A. (1971) Une épidémie de jaunisse dans le vignoble corse : probablement la flavescence dorée. *Le Progrès Agricole et Viticole*. **88**: 355-364.
- Boudon-Padieu, E. & Larrue, J. (1986) Diagnostic rapide de la flavescence dorée de la vigne par le test ELISA sur cicadelle vectrice. Application a des populations naturelles de *Scaphoideus littoralis* Ball. Confirmation de la présence de la flavescence dorée dans les Bouches-du-Rhône. *Le Progrès Agricole et Viticole*. **103**: 524-526.
- Boudon-Padieu, E., Larrue, J. & Caudwell, A. (1989) ELISA and dot-blot detection of Flavescence dorée-MLO in individual leafhopper vectors during latency and inoculative state. *Current Microbiology*. **19**: 357-364.
- Boudon-Padieu, E., Larrue, J. & Caudwell, A. (1990) Serological detection and characterization of grapevine Flavescence dorée MLO and other plant MLOs. *IOM Letters*. **1**: 217-218.
- Boudon-Padieu, E. (2000) Cicadelle vectrice de la flavescence dorée, *Scaphoideus titanus* Ball, 1932. *Ravageurs de la vigne* (ed Féret), pp. 110-120. Bordeaux.
- Boudon-Padieu, E. (2005) Phytoplasmes associés aux Jaunisses de la vigne et vecteurs potentiels. *Bulletin de l'O.I.V.* **78**: 299-309.
- Boulay, R., Hefetz, A., Soroker, V. & Lenoir, A. (2000) *Camponotus fellah* colony integration: worker individuality necessitates frequent hydrocarbon exchanges. *Animal Behaviour*. **59**: 1127-1133.
- Bournier, A. (1977) Grape insects. *Annual Review of Entomology*. **22**: 355-376.
- Bovey, R. & Martelli, G.P. (1992) *Directory of Major Virus and Virus-like Diseases of Grapevines. Descriptions, Historical Review and Bibliography*. Mediterranean Fruit Crop Improvement Council and International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of Grapevine. 111 pp.
- Bradley, J.T. (1985) Interactions between social factors and ovarian development in the European house cricket *Acheta domesticus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **38**: 249-254.
- Bradshaw, W.E., Holzapfel, C.M., Kleckner, C.A. & Hard, J.J. (1997) Heritability of development time and protandry in the pitcher-plant mosquito, *Wyeomyia smithii*. *Ecology*. **78**: 969-976.
- Branas, J. (1956a) La "maladie" du 22 A. *Le Progrès Agricole et Viticole*. **77**: 289-297.
- Branas, J. (1956b) La "maladie" du Chardonnay et les épidémies de Flavescence. *Le Progrès Agricole et Viticole*. **77**: 319-325.



- Bressan, A., Clair, D., Sémétey, O. & Boudon-Padieu, E. (2005a) Effect of two strains of Flavescence dorée phytoplasma on the survival and fecundity of the experimental leafhopper vector *Euscelidius variegatus* Kirschbaum. *Journal of Invertebrate Pathology*. **89**: 144-149.
- Bressan, A., Girolami, V. & Boudon-Padieu, E. (2005b) Reduced fitness of the leafhopper vector *Scaphoideus titanus* exposed to Flavescence dorée phytoplasma. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **115**: 283-290.
- Bressan, A., Spiazzi, S., Girolami, V. & Boudon-Padieu, E. (2005c) Acquisition efficiency of Flavescence dorée phytoplasma by *Scaphoideus titanus* Ball from infected tolerant or susceptible grapevine cultivars or experimental host plants. *Vitis*. **44**: 143-146.
- Bressan, A., Larrue, J. & Padieu, E.B. (2006) Patterns of phytoplasma-infected and infective *Scaphoideus titanus* leafhoppers in vineyards with high incidence of Flavescence dorée. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **119**: 61-69.
- Briddon, R.W., Bedford, I.D., Tsai, J.H. & Markham, P.G. (1996) Analysis of the nucleotide sequence of the treehopper-transmitted geminivirus, tomato pseudo-curly top virus, suggests a recombinant origin. *Virology*. **219**: 387-394.
- Brodbeck, B.V., Mizell, R.F. & Andersen, P.C. (1993) Physiological and behavioral adaptations of three species of leafhoppers in response to the dilute nutrient content of xylem fluid. *Journal of Insect Physiology*. **39**: 73-81.
- Bruce, T.J.A., Wadhams, L.J. & Woodcock, C.M. (2005) Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*. **10**: 269-274.
- Bullas-Appleton, E.S., Otis, G., Gillard, C. & Schaafsma, A.W. (2004) Potato leafhopper (Homoptera : Cicadellidae) varietal preferences in edible beans in relation to visual and olfactory cues. *Environmental Entomology*. **33**: 1381-1388.
- Buzatto, B.A., Requena, G.S. & Machado, G. (2009) Chemical communication in the gregarious psocid *Cerastipsocus sivorii* (Psocoptera: Psocidae). *Journal of Insect Behavior*. **22**: 388-398.
- Byers, C.J. & Eason, P.K. (2009) Conspecifics and their posture influence site choice and oviposition in the damselfly *Argia moesta*. *Ethology*. **115**: 721-730.
- Calas, D., Thiery, D. & Marion-Poll, F. (2006) 20-Hydroxyecdysone deters oviposition and larval feeding in the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Journal of Chemical Ecology*. **32**: 2443-2454.
- Calatayud, P.A. & Le Rü, B. (2011) Chapitre 5. Les pièces buccales et l'alimentation des insectes. *Des Insectes et des Plantes* (ed N. Sauvion, Calatayud P-A., Thiéry D., Marion-Poll F.), pp. 105-111. Ed. IRD & Publibook, France, px-x, in press.
- Canto, T., Aranda, M.A. & Fereres, A. (2009) Climate change effects on physiology and population processes of hosts and vectors that influence the spread of hemipteran-borne plant viruses. *Global Change Biology*. **15**: 1884-1894.
- Cardeña, R., Ashburner, G.R. & Oropeza, C. (2003) Identification of RAPDs associated with resistance to lethal yellowing of the coconut (*Cocos nucifera* L.) palm. *Scientia Horticulturae*. **98**: 257-263.
- Carginale, V., Maria, G., Capasso, C., Ionata, E., La Cara, F., Pastore, M., Bertaccini, A. & Capasso, A. (2004) Identification of genes expressed in response to phytoplasma infection in leaves of *Prunus armeniaca* by messenger RNA differential display. *Gene*. **332**: 29-34.
- Carle, P. (1965) Relations alimentaires entre *Malacocoris chlorizans* Pz (Hémipt. Hétérop. "Miridae") et *Scaphoideus littoralis* Ball. (Hémipt. Homopt. "Jassidae") sur les *Vitis* dans le Sud-Ouest de la France. *Revue de Zoologie Agricole et Appliquée*. **7-9**: 72-78.
- Carle, P. & Moutous, G. (1965) Observations sur le mode de nutrition sur vigne de quatre espèces de cicadelles. *Annales des Epiphyties*. **16**: 333-354.

- Carraro, L., Loi, N., Kuszala, C., Clair, D., Boudon-Padieu, E. & Refatti, E. (1994) On the ability-inability of *Scaphoideus titanus* to transmit different grapevine yellow agents. *Vitis*. **33**: 231-234.
- Carraro, L., Loi, N., Ermacora, P., Martini, M., Borgo, M., Casati, P. & Osler, R. (2009) Graft transmission trials of Flavescence dorée phytoplasma from recovered grapevines. *Extended abstracts 16<sup>th</sup> Meeting of ICVG*. Le Progrès Agricole et Viticole. Hors série: 172-173, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009.
- Carter, W. (1961) Ecological aspects of plant virus transmissions. *Annual Review of Entomology*. **6**: 347-370.
- Cates, R.G. (1980) Feeding patterns of monophagous, oligophagous, and polyphagous insect herbivores: The effect of resource abundance and plant chemistry. *Oecologia*. **46**: 22-31.
- Caudwell, A. (1957) Deux années d'études sur la Flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la Vigne. *Annales de l'Amélioration des Plantes*. **4**: 359-393.
- Caudwell, A. (1964a) Identification d'une nouvelle maladie à virus de la vigne, la « Flavescence dorée ». Etude des phénomènes de localisation des symptômes et de rétablissement. *Annales des Epiphyties*. **15**: 193 pp.
- Caudwell, A. (1964b) Identification d'une nouvelle maladie à virus de la vigne, la « Flavescence dorée ». Etude des phénomènes de localisation des symptômes et de rétablissement. *Annales des Epiphyties*. **15(Hors Série 1)**: 193 pp.
- Caudwell, A. (1965) La biologie de la Flavescence dorée et les fondements des mesures préventives. *Bulletin Technique d'Information des Ingénieurs des Services Agricoles*. **198**: 1-12.
- Caudwell, A., Kuszala, C., Bachelier, J.C. & Larrue, J. (1970) Transmission de la Flavescence dorée de la vigne aux plantes herbacées par l'allongement du temps d'utilisation de la cicadelle *Scaphoideus littoralis* BALL et l'étude de sa survie sur un grand nombre d'espèces végétales. *Annales de Phytopathologie*. **2**: 415-428.
- Caudwell, A., Giannotti, J., Kuszala, C. & Larrue, J. (1971a) Etude du rôle de particules de type « mycoplasmes » dans l'étiologie de la Flavescence dorée de la vigne. Examen cytologique des plantes malades et des cicadelles infectieuses. *Annales de Phytopathologie*. **3**: 109-125.
- Caudwell, A., Larrue, J., Kuszala, C. & Bachelier, J.C. (1971b) Pluralité des jaunisses de la vigne. *Annales de Phytopathologie*. **3**: 95-105.
- Caudwell, A., Brun, P., Fleury, A. & Larrue, J. (1972) Les traitements ovicides contre la cicadelle vectrice, *Scaphoideus littoralis* (Ball), leur intérêt dans la lutte contre la flavescence dorée en Corse et dans les autres régions. *Vignes et Vins*. **21**: 5-10.
- Caudwell, A., Moutous, G., Larrue, J., Fos, A., Blancon, G. & Schick, J.P. (1974) Les épidémies de Flavescence dorée en Armagnac et en Corse et les nouvelles perspectives de lutte contre le vecteur par des traitements ovicides d'hiver. *Bulletin Technique d'Information*. **294**: 783-794.
- Caudwell, A. & Larrue, J. (1979) Examen du problème de la Flavescence dorée dans le cadre de la sélection sanitaire des bois et plants de vigne. *Le Progrès Agricole et Viticole*. 128-134.
- Caudwell, A., Meignoz, R., Kuszala, C., Schneider, C., Larrue, J., Fleury, A. & Boudon, E. (1981) Observation de l'agent pathogène (MLO) de la Flavescence dorée de la vigne en milieu liquide par immunosorbant électromicroscopie (ISEM). *Le Progrès Agricole et Viticole*. **24**: 835-838.
- Caudwell, A. (1983) L'origine des jaunisses à mycoplasmes (MLO) des plantes et l'exemple des jaunisses de la vigne. *Agronomie*. **3**: 103-111.
- Caudwell, A. & Larrue, J. (1986) La flavescence dorée dans le Midi de la France et dans le Bas-Rhône. *Le Progrès Agricole et Viticole*. **103**: 517-523.



- Caudwell, A., Boudon-Padieu, E., Kuszala, C. & Larrue, J. (1987) Biologie et étiologie de la Flavescence dorée. Recherches sur son diagnostic et sur les méthodes de lutte. *Convegno internazionale sulla flavescenza dorata della vite* (ed S. Ruini), pp. 175-208. Vicenza, Verona (ITA).
- Caudwell, A., Larrue, J., Valat, C. & Grenan, S. (1990) Les traitements à l'eau chaude des bois de vigne atteints de la Flavescence dorée. *Le Progrès Agricole et Viticole*. **107**: 281-286.
- Caudwell, A., Larrue, J. & Tassart, V. (1994) Caractère "porteur de la flavescence dorée" chez les vignes porte-greffes, en particulier le 3309 Couderc et le Fercal. *Agronomie*. **2**: 83-94.
- Caudwell, A., Larrue, J., Boudon-Padieu, E. & Mclean, G.D. (1997) Flavescence dorée elimination from dormant wood of grapevines by hot-water treatment. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. **3**: 21-25.
- Chandler, S.M., Wilkinson, T.L. & Douglas, A.E. (2008) Impact of plant nutrients on the relationship between a herbivorous insect and its symbiotic bacteria. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **275**: 565-570.
- Charif, R.A., Clark, C.W. & Fristup, K.M. (2004) *Raven 1.2 User's Manual*. Cornell Laboratory of Ornithology, Ithaca, NY. 191 pp.
- Chiyskowski, L.N. (1973) Factors Affecting the Infection of Plants with Clover Phyllody Agent Transmitted by *Macrosteles fascifrons*. *Annals of the Entomological Society of America*. **66**: 987-990.
- Christensen, N.M., Nicolaisen, M., Hansen, M. & Schulz, A. (2004) Distribution of phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. **17**: 1175-1184.
- Christensen, N.M., Axelsen, K.B., Nicolaisen, M. & Schulz, A. (2005) Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Trends in Plant Science*. **10**: 526-535.
- Chuche, J., Xuereb, A. & Thiery, D. (2006) Attraction of *Dibrachys cavus* (Hymenoptera : Pteromalidae) to its host frass volatiles. *Journal of Chemical Ecology*. **32**: 2721-2731.
- Cid, M. & Fereres, A. (2010) Characterization of the probing and feeding behavior of *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) on grapevine. *Annals of the Entomological Society of America*. **103**: 404-417.
- Claessen, D., De Roos, A.M. & Persson, L. (2004) Population dynamic theory of size-dependent cannibalism. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. **271**: 333-340.
- Clair, D., Larrue, J., Aubert, G., Gillet, J., Cloquemin, G. & Boudon-Padieu, E. (2003) A multiplex nested-PCR assay for sensitive and simultaneous detection and direct identification of phytoplasma in the Elm yellows group and Stolbur group and its use in survey of grapevine yellows in France. *Vitis*. **42**: 151-157.
- Clark, B.R. & Faeth, S.H. (1997) The consequences of larval aggregation in the butterfly *Chlosyne lacinia*. *Ecological Entomology*. **22**: 408-415.
- Clerc, L., Linder, C. & Gunthart, H. (1997) Première observation en Suisse romande de la cicadelle *Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera, Jassidae), vecteur de la flavescence dorée de la vigne. *Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture*. **29**: 245-247.
- Clutton-Brock, T. (2007) Sexual selection in males and females. *Science*. **318**: 1882-1885.
- Coats, J.R. (1994) Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Review of Entomology*. **39**: 489-515.
- Cocroft, R.B. (1999) Parent-offspring communication in response to predators in a subsocial treehopper (Hemiptera: Membracidae: *Umbonia crassicornis*). *Ethology*. **105**: 553-568.
- Čokl, A. & Virant-Doberlet, M. (2003) Communication with substrate-borne signals in small plant-dwelling insects. *Annual Review of Entomology*. **48**: 29-50.

- Collier, R.H. & Finch, S. (1983) Effects of intensity and duration of low temperatures in regulating diapause development of the cabbage root fly *Delia radicum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **34**: 193-200.
- Cook, S.M., Khan, Z.R. & Pickett, J.A. (2007) The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annual Review of Entomology*. **52**: 375-400.
- Copping, L.G. & Duke, S.O. (2007) Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*. **63**: 524-554.
- Cordova, I., Jones, P., Harrison, N.A. & Oropeza, C. (2003) In situ PCR detection of phytoplasma DNA in embryos from coconut palms with lethal yellowing disease. *Molecular Plant Pathology*. **4**: 99-108.
- Cottrell, T.E., Wood, B.W. & Reilly, C.C. (2002) Particle film affects black pecan aphid (Homoptera: Aphididae) on pecan. *Journal of Economic Entomology*. **95**: 782-788.
- Cousin, M.T. (1995) Phytoplasmes et phytoplasmoses. *Agronomie*. **15**: 245-264.
- Cousin, M.T. & Boudon-Padieu, E. (2001) Phytoplasmes et phytoplasmoses : caractéristiques, symptômes et diagnostic. *Cahiers d'études et de recherches francophones / Agricultures*. **10**: 361-376.
- Couty, A., Kaiser, L., Huet, D. & Pham-Delègue, M.H. (1999) The attractiveness of different odour sources from the fruit host complex on *Leptopilina bouvardi*, a larval parasitoid of frugivorous *Drosophila spp.* *Physiological Entomology*. **24**: 76-82.
- Cravedi, P., Mazzoni, E., Cervato, P. & Libe, A. (1993) Studies on *Scaphoideus titanus* Ball. (Homoptera: Cicadellidae) distribution in vineyards in Piacenza province [Emilia-Romagna]. *Annali della Facoltà di Agraria - Università Cattolica del Sacro Cuore, Milano*. **33**: 131-149.
- Credi, R. (1994) Occurrence of Anomalous Mycoplasma-like Organisms in Grapevine Yellow-diseased Phloem. *Journal of Phytopathology*. **142**: 310-316.
- Croft, B.A. & Brown, A.W.A. (1975) Responses of arthropod natural enemies to insecticides. *Annual Review of Entomology*. **20**: 285-335.
- Crompton, D.S. & Ode, P.J. (2010) Feeding behavior analysis of the soybean aphid (Hemiptera: Aphididae) on resistant soybean 'Dowling'. *Journal of Economic Entomology*. **103**: 648-653.
- Cronin, J., Haynes, K. & Dilleuth, F. (2004) Spider effects on on planthopper mortality, dispersal, and spatial population dynamics. *Ecology*. **85**: 2134-2143.
- Crotti, E., Damiani, C., Pajoro, M., Gonella, E., Rizzi, A., Ricci, I., Negri, I., Scuppa, P., Rossi, P., Ballarini, P., Raddadi, N., Marzorati, M., Sacchi, L., Clementi, E., Genchi, M., Mandrioli, M., Bandi, C., Favia, G., Alma, A. & Daffonchio, D. (2009) *Asaia*, a versatile acetic acid bacterial symbiont, capable of cross-colonizing insects of phylogenetically distant genera and orders. *Environmental Microbiology*. **11**: 3252-3264.
- Daire, X., Clair, D., Larrue, J., Boudon-Padieu, E. & Caudwell, A. (1993) Diversity among mycoplasma-like organisms inducing grapevine yellows in France. *Vitis*. **32**: 159-163.
- Daire, X., Clair, D., Reinert, W. & Boudonpadieu, E. (1997) Detection and differentiation of grapevine yellows phytoplasmas belonging to the elm yellows group and to the stolbur subgroup by PCR amplification of non-ribosomal DNA. *European Journal of Plant Pathology*. **103**: 507-514.
- Danforth, B.N. (1999) Emergence dynamics and bet hedging in a desert bee, *Perdita portalis*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. **266**: 1985-1994.
- Daniel, C., Pfammatter, W., Kehrl, P. & Wyss, E. (2005) Processed kaolin as an alternative insecticide against the European pear sucker, *Cacopsylla pyri* (L.). *Journal of Applied Entomology*. **129**: 363-367.
- Danise, B., Griffò, R., Pesapane, G., Scognamiglio, G. & Tropiano, F. (2005) Presenza massiccia di scafoideo in Campania. *Informatore Agrario*. **61**: 73-75.

- Danks, H.V. (2006) Insect adaptations to cold and changing environments. *Canadian Entomologist*. **138**: 1-23.
- Darwin, C.R. (1871) *The descent of man, and selection in relation to sex*. John Murray, London. 423 pp.
- Daugherty, M.P., Lopes, J.R.S. & Almeida, R.P.P. (2010) Vector within-host feeding preference mediates transmission of a heterogeneously distributed pathogen. *Ecological Entomology*. **35**: 350-366.
- Davey, J.E., Van Staden, J. & De Leeuw, G.T.N. (1981) Endogenous cytokinin levels and development of flower virescence in *Catharanthus roseus* infected with mycoplasmas. *Physiological Plant Pathology*. **19**: 193-200.
- De Sousa, E., Casati, P., Cardoso, F., Baltazar, C., Durante, G., Quaglino, F. & Bianco, P.A. (2010) Flavescence doree phytoplasma affecting grapevine (*Vitis vinifera*) newly reported in Portugal. *Plant Pathology*. **59**: 398-398.
- Decante, D. & Van Helden, M. (2006) Population ecology of *Empoasca vitis* (Gothe) and *Scaphoideus titanus* (Ball) in Bordeaux vineyards: Influence of migration and landscape. *Crop Protection*. **25**: 696-704.
- Delic, D., Seljak, G., Martin, M., Ermacora, P., Carraro, L., Myrta, A. & Duric, G. (2007) Surveys for grapevine yellows phytoplasmas in Bosnia and Herzegovina. *Bulletin of Insectology*. **60**: 369-370.
- Della Giustina, W. (1989) *Homoptères Cicadellidae volume 3, compléments aux ouvrages d'Henri Ribaut*. 350 pp.
- Della Giustina, W., Hogrel, R. & Della Giustina, M. (1992) Description des différents stades larvaires de *Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera, Cicadellidae). *Bulletin de la Société Entomologique de France*. **97**: 269-276.
- Delong, D.M. (1948) The leafhoppers, or Cicadellidae, of Illinois (Eurymelinae - Balcluthinae). *Bulletin of the Illinois Natural History Survey*. **24**: 91-376.
- Denlinger, D.L. (2002) Regulation of diapause. *Annual Review of Entomology*. **47**: 93-122.
- Denno, R. & Benrey, B. (1997) Aggregation facilitates larval growth in the neotropical nymphalid butterfly *Chlosyne janais*. *Ecological Entomology*. **22**: 133-141.
- Der, Z., Koczor, S., Zsolnai, B., Ember, I., Kolber, M., Bertaccini, A. & Alma, A. (2007) *Scaphoideus titanus* identified in Hungary. *Bulletin of Insectology*. **60**: 199-200.
- Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.-M. (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*. **52**: 81-106.
- Despland, E. & Simpson, S.J. (2005) Surviving the change to warning colouration: density-dependent polyphenism suggests a route for the evolution of aposematism. *Chemoecology*. **15**: 69-75.
- Dewar, R.C. & Watt, A.D. (1992) Predicted changes in the synchrony of larval emergence and budburst under climatic warming. *Oecologia*. **89**: 557-559.
- DGAL, Direction Générale de l'Alimentation. (2009) Note de service DGAL/SDQPV/N2009-8273 du 06/10/2009. pp. 18.
- Dinan, L. (1998) A strategy towards the elucidation of the contribution made by phytoecdysteroids to the deterrence of invertebrate predators on plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. **45**: 296-305.
- Dingle, H. (1992) Food level reaction norms in size-selected milkweed bugs (*Oncopeltus fasciatus*). *Ecological Entomology*. **17**: 121-126.
- Dixon, A.F.G. (1976) Timing of egg hatch and viability of sycamore aphid, *Drepanosiphum platanoidis* (Schr.), at bud burst of sycamore, *Acer pseudoplatanus* L. *Journal of Animal Ecology*. **45**: 593-603.
- Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K. & Asuyama, H. (1967) Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. **33**: 259-266.

- Donovan, B. (2004) Sexually transmissible infections other than HIV. *Lancet*. **363**: 545-556.
- Douglas, A.E. (1998) Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: Aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. *Annual Review of Entomology*. **43**: 17-37.
- Douglas, A.E., Price, D.R.G., Minto, L.B., Jones, E., Pescod, K.V., Francois, C., Pritchard, J. & Boonham, N. (2006) Sweet problems: insect traits defining the limits to dietary sugar utilisation by the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Experimental Biology*. **209**: 1395-1403.
- Douglas, A.E. (2009) The microbial dimension in insect nutritional ecology. *Functional Ecology*. **23**: 38-47.
- Du, T., Wang, Y., Hu, Q.X., Chen, J., Liu, S., Huang, W.J. & Lin, M.L. (2005) Transgenic *Paulownia* expressing shiva-1 gene has increased resistance to Paulownia witches' broom disease. *Journal of Integrative Plant Biology*. **47**: 1500-1506.
- Duchêne, E. & Schneider, C. (2005) Grapevine and climatic changes: a glance at the situation in Alsace. *Agronomy for Sustainable Development*. **25**: 93-99.
- Dukas, R. (2008) Evolutionary biology of insect learning. *Annual Review of Entomology*. **53**: 145-160.
- Durant, S.E., Hepp, G.R., Moore, I.T., Hopkins, B.C. & Hopkins, W.A. (2010) Slight differences in incubation temperature affect early growth and stress endocrinology of wood duck (*Aix sponsa*) ducklings. *Journal of Experimental Biology*. **213**: 45-51.
- Duval, J. & Weill, A. (2007) *Manuel des intrants bio: un recueil des intrants commerciaux autorisés en production végétale biologique et disponibles au Québec*. Club agroenvironnemental Bio-Action. 40 pp.
- E-phy, Ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Pêche. Le catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages des matières fertilisantes et des supports de culture homologués en France. <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>. 23 février 2010.
- Ebbert, M.A. & Nault, L.R. (2001) Survival in *Dalbulus* leafhopper vectors improves after exposure to maize stunting pathogens. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **100**: 311-324.
- Elbaz, A., Clavel, J., Rathouz, P.J., Moisan, F., Galanaud, J.P., Delemotte, B., Alperovitch, A. & Tzourio, C. (2009) Professional exposure to pesticides and Parkinson disease. *Annals of Neurology*. **66**: 494-504.
- Ellers, J. & Van Alphen, J.J.M. (2002) A trade-off between diapause duration and fitness in female parasitoids. *Ecological Entomology*. **27**: 279-284.
- Elliot, S.L., Adler, F.R. & Sabelis, M.W. (2003) How virulent should a parasite be to its vector? *Ecology*. **84**: 2568-2574.
- Evans, K.A. & Allen-Williams, L.J. (1994) Laboratory and field response of the pollen beetle, *Meligethes aeneus*, to the odour of oilseed rape. *Physiological Entomology*. **19**: 285-290.
- Ewert, M.A. & Nelson, C.E. (2003) Metabolic heating of embryos and sex determination in the american alligator, *Alligator mississippiensis*. *Journal of Thermal Biology*. **28**: 159-165.
- Fagerström, T. & Wiklund, C. (1977) Why do males emerge before females? A hypothesis to explain the incidence of protandry in butterflies. *Oecologia*. **31**: 153-158.
- Fermaud, M. & Lemenn, R. (1992) Transmission of *Botrytis cinerea* to grapes by grape berry moth larvae. *Phytopathology*. **82**: 1393-1398.
- Field, S.A., Kaspi, R. & Yuval, B. (2002) Why do calling medflies (Diptera: Tephritidae) cluster? Assessing the empirical evidence for models of medfly lek evolution. *Florida Entomologist*. **85**: 63-72.
- Filippin, L., Jovi, J., Cvrkovi, T., Forte, V., Clair, D., Tosevski, I., Boudon-Padieu, E., Borgo, M. & Angelini, E. (2009) Molecular characteristics of phytoplasmas associated with *Flavescence dorée* in clematis and grapevine and preliminary results on the role of *Dictyophara europaea* as a vector. *Plant Pathology*. **58**: 826-837.



- Firrao, G., Gibb, K. & Streten, C. (2005) Short taxonomic guide to the genus 'Candidatus phytoplasma'. *Journal of Plant Pathology*. **87**: 249-263.
- Firrao, G., Garcia-Chapa, M. & Marzachi, C. (2007) Phytoplasmas: genetics, diagnosis and relationships with the plant and insect host. *Frontiers in Bioscience*. **12**: 1353-1375.
- Forte, V., Borgo, M., Dalla Cia, L. & Angelini, E. (2009) High occurrence of *Scaphoideus titanus* adults on wild rootstocks in North Eastern Italy. *Extended abstracts 16<sup>th</sup> Meeting of ICVG*. Le Progrès Agricole et Viticole. Hors série: 164-165, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009.
- Fussler, L., Kobes, N., Bertrand, F., Mauray, M., Grosman, J. & Savary, S. (2008) A characterization of grapevine trunk diseases in France from data generated by the National Grapevine Wood Diseases Survey. *Phytopathology*. **98**: 571-579.
- Gabel, B. & Thiery, D. (1992) Biological evidence of an oviposition-deterrence pheromone in *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera, Tortricidae). *Journal of Chemical Ecology*. **18**: 353-358.
- Galet, P. (1982) *Les maladies et parasites de la vigne. Tome II*. Imprimerie du Paysan du Midi, Montpellier. 1008 pp.
- Galetto, L., Roggia, C., Marzachi, C., Alma, A. & Bosco, D. (2009) Acquisition of Flavescence dorée phytoplasma by *Scaphoideus titanus* Ball from recovered and infected grapevines of Barbera and Nebbiolo cultivars. *Extended abstracts 16<sup>th</sup> Meeting of ICVG*. Le Progrès Agricole et Viticole. Hors série: 170-171, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009.
- Gamberale, G. & Tullberg, B.S. (1998) Aposematism and gregariousness: the combined effect of group size and coloration on signal repellence. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. **265**: 889-894.
- Garcia-Berthou, E. (2001) On the misuse of residuals in ecology: testing regression residuals vs. the analysis of covariance. *Journal of Animal Ecology*. **70**: 708-711.
- Garcia-Chapa, M., Sabate, J., Lavina, A. & Batlle, A. (2005) Role of *Cacopsylla pyri* in the epidemiology of pear decline in Spain. *European Journal of Plant Pathology*. **111**: 9-17.
- Garcin, A. (2009) L'argile kaolinite, une nouvelle méthode de lutte par barrière minérale protectrice contre le puceron vert du pêcher *Myzus persicae* Sulz. *Innovations Agronomiques*. **4**: 107-113.
- Ge, Q. & Wen, F. (2006) Predicting the potential geographical distribution of flavescence dorée and its vector *Scaphoideus titanus* Ball in China using DIVA-GIS. *Acta Phytopylacica Sinica*. **33**: 51-58.
- Giannotti, J., Caudwell, A., Vago, C. & Duthoit, L. (1969) Isolement et purification de micro-organismes de type mycoplasme à partir de vignes atteintes de Flavescence dorée. *Comptes Rendu de l'Académie des Sciences de Paris*. **268**: 845-847.
- Gibson, L.P. (1973) *An annotated list of the Cicadellidae and Fulgoridae of Elm*. Res. Pap. NE-278. Upper Darby, PA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station. 8 pp.
- Glenn, D.M., Puterka, G., Venderzwet, T., Byers, R.E. & Feldhake, C. (1999) Hydrophobic particle films: a new paradigm for suppression of arthropod pests and plant diseases. *Journal of Economic Entomology*. **92**: 759-771.
- Glenn, D.M. & Puterka, G.J. (2005) Particle films: a new technology for agriculture. *Horticulture Review*. **31**: 1-44.
- Gonzalez, P.I., Montoya, P., Perez-Lachaud, G., Cancino, J. & Liedo, P. (2010) Host discrimination and superparasitism in wild and mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Hym.: Braconidae) females. *Biocontrol Science and Technology*. **20**: 137-148.
- Gould, G.G., Jones, C.G., Rifleman, P., Perez, A. & Coleman, J.S. (2007) Variation in eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) phloem sap content caused by leaf development

- may affect feeding site selection behavior of the aphid, *Chaitophorous populicola* Thomas (Homoptera : Aphididae). *Environmental Entomology*. **36**: 1212-1225.
- Goulson, D. & Cory, J.S. (1995) Responses of *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) to crowding: interactions with disease resistance, colour phase and growth. *Oecologia*. **104**: 416-423.
- Granett, J., Walker, M.A., Kocsis, L. & Omer, A.D. (2001) Biology and management of grape phylloxera. *Annual Review of Entomology*. **46**: 387-412.
- Grant, J.W.A., Michael, M.J., Bryant, J. & Soos, C.E. (1995) Operational sex ratio, mediated by synchrony of female arrival, alters the variance of male mating success in Japanese medaka. *Animal Behaviour*. **49**: 367-375.
- Griffiths, H., Sinclair, W.A., Boudon-Padieu, E., Daire, X., Lee, I.M., Sfalanga, A. & Bertaccini, A. (1999) Phytoplasmas associated with elm yellows : Molecular variability and differentiation from related organisms. *Plant Disease*. **83**: 1101-1104.
- Grosman, J. (2009a) "Paquet pesticides" ce qui va changer pour les autorisations. *Phytoma*. **628**: 20-23.
- Grosman, J. (2009b) Produits phytos, ce que la réglementation a déjà changé. *Phytoma*. **628**: 14-19.
- GTN-Fd, Groupe de Travail National - Flavescence dorée. (2006) Jaunisses à phytoplasmes de la vigne. (ed Entav), pp. 24.
- Hamilton, K.G.A. (1983) Introduced and native leafhoppers common to the Old and New worlds (Rhynchota: Homoptera: Cicadellidae). *Canadian Entomologist*. **115**: 473-511.
- Han, Q., Hansson, B.S. & Anton, S. (2005) Interactions of mechanical stimuli and sex pheromone information in antennal lobe neurons of a male moth, *Spodoptera littoralis*. *Journal of Comparative Physiology a-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*. **191**: 521-528.
- Hanboonsong, Y., Choosai, C., Panyim, S. & Damak, S. (2002) Transovarial transmission of sugarcane white leaf phytoplasma in the insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura). *Insect Molecular Biology*. **11**: 97-103.
- Hardie, J., Storer, J.R., Cook, F.J., Campbell, C.A.M., Wadhams, L.J., Lilley, R. & Peace, L. (1996) Sex pheromone and visual trap interactions in mate location strategies and aggregation by host-alternating aphids in the field. *Physiological Entomology*. **21**: 97-106.
- Hardman, J.M., Rogers, R.E.L., Nyrop, J.P. & Frisch, T. (1991) Effect of pesticide applications on abundance of European red mite (Acari: tetranychidae) and *Tryphlodromus pyri* (Acarai: phytoseiidae) in Nova Scotian apple orchards. *Journal of Economic Entomology*. **84**: 570-580.
- Harrison, N.A., Griffiths, H.M., Carpio, M.L. & Richardson, P.A. (2001) Detection and characterization of an elm yellows (16SrV) group phytoplasma infecting virginia creeper plants in southern Florida. *Plant Disease*. **85**: 1055-1062.
- Hazarika, L.K., Bhuyan, M. & Hazarika, B.N. (2009) Insect pests of tea and their management. *Annual Review of Entomology*. **54**: 267-284.
- Herrbach, E., Sauvion, N., Boudon-Padieu, E., Lett, J.M., Reynaud, B. & Sforza, R. (2011) Chapitre 34. Une relation trophique originale : la vection entomophile d'agents pathogènes. *Des Insectes et des Plantes* (ed N. Sauvion, Calatayud P-A., Thiéry D., Marion-Poll F.), pp. 570-606. Ed. IRD & Publibook, France, px-x, in press.
- Higaki, M. & Ando, Y. (2002) The effect of temperature on embryonic development and local adaptation in the life cycle of *Eobiana engelhardti subtropica* Bey-Bienko (Orthoptera : Tettigoniidae). *Applied Entomology and Zoology*. **37**: 625-636.
- Hill, G.T. & Sinclair, W.A. (2000) Taxa of leafhoppers carrying phytoplasmas at sites of ash yellows occurrence in New York State. *Plant Disease*. **84**: 134-138.
- Hill, P.S.M. (1999) Lekking in *Gryllotalpa major*, the prairie, mole cricket (Insecta: Gryllotalpidae). *Ethology*. **105**: 531-545.

- Hochberg, M.E. (1991) Viruses as costs to gregarious feeding behaviour in the Lepidoptera. *Oikos*. **61**: 291-296.
- Hodge, S. & Powell, G. (2008) Do plant viruses facilitate their aphid vectors by inducing symptoms that alter behavior and performance? *Environmental Entomology*. **37**: 1573-1581.
- Hogenhout, S.A., Ammar, E.-D., Whitfield, A.E. & Redinbaugh, M.G. (2008a) Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annual Review of Phytopathology*. **46**: 327-359.
- Hogenhout, S.A., Oshima, K., Ammar, E.D., Kakizawa, S., Kingdom, H.N. & Namba, S. (2008b) Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Molecular Plant Pathology*. **9**: 403-423.
- Holbrook, G.L. & Schal, C. (1998) Social influences on nymphal development in the cockroach *Diploptera punctata*. *Physiological Entomology*. **23**: 121-130.
- Holbrook, G.L., Armstrong, E., A.S. Bachmann, J., Deasy, B.M. & Schal, C. (2000) Role of feeding in the reproductive 'group effect' in females of the German cockroach *Blattella germanica* (L.). *Journal of Insect Physiology*. **46**: 941-949.
- Hopper, K.R. (1999) Risk-spreading and bet-hedging in insect population biology. *Annual Review of Entomology*. **44**: 535-560.
- Horvath, D.P., Anderson, J.V., Chao, W.S. & Foley, M.E. (2003) Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. *Trends in Plant Science*. **8**: 534-540.
- Hoshi, A., Oshima, K., Kakizawa, S., Ishii, Y., Ozeki, J., Hashimoto, M., Komatsu, K., Kagiwada, S., Yamaji, Y. & Namba, S. (2009) A unique virulence factor for proliferation and dwarfism in plants identified from a phytopathogenic bacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **106**: 6416-6421.
- Howe, R.W. (1967) Temperature effects on embryonic development in insects. *Annual Review of Entomology*. **12**: 15-42.
- Hren, M., Nikolic, P., Rotter, A., Blejec, A., Terrier, N., Ravnkar, M., Dermastia, M. & Gruden, K. (2009a) 'Bois noir' phytoplasma induces significant reprogramming of the leaf transcriptome in the field grown grapevine. *BMC Genomics*. **10**: 460.
- Hren, M., Ravnkar, M., Brzin, J., Ermacora, P., Carraro, L., Bianco, P.A., Casati, P., Borgo, M., Angelini, E., Rotter, A. & Gruden, K. (2009b) Induced expression of sucrose synthase and alcohol dehydrogenase I genes in phytoplasma-infected grapevine plants grown in the field. *Plant Pathology*. **58**: 170-180.
- Hu, X., Zhao, H., Hu, Z., Li, D. & Zhang, Y. (2008) EPG comparison of *Sitobion avenae* (Fab.) feeding behavior on three wheat varieties. *Agricultural Sciences in China*. **7**: 180-186.
- Huey, R.B. & Berrigan, D. (2001) Temperature, demography, and ectotherm fitness. *American Naturalist*. **158**: 204-210.
- Hunt, E.J., Pritchard, J., Bennett, M.J., Zhu, X., Barrett, D.A., Allen, T., Bale, J.S. & Newbury, H.J. (2006) The *Arabidopsis thaliana* *Myzus persicae* model system demonstrates that a single gene can influence the interaction between a plant and a sap-feeding insect. *Molecular Ecology*. **15**: 4203-4213.
- Hunter, M.D. & Mcneil, J.N. (1997) Host-plant quality influences diapause and voltinism in a polyphagous insect herbivore. *Ecology*. **78**: 977-986.
- Hurd, H. (2003) Manipulation of medically important insect vectors by their parasites. *Annual Review of Entomology*. **48**: 141-161.
- ICSB, International Committee on Systematic Bacteriology - subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes. (2004) 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **54**: 1243-1255.
- IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change (2007) *Technical Summary*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 976 pp.

- Isman, M.B. (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*. **51**: 45-66.
- Iwanaga, K. & Tojo, S. (1986) Effects of juvenile hormone and rearing density on wing dimorphism and oöcyte development in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Journal of Insect Physiology*. **32**: 585-590.
- Jagoueix-Eveillard, S., Tarendeau, F., Guolter, K., Danet, J.L., Bove, J.M. & Garnier, M. (2001) *Catharanthus roseus* genes regulated differentially by mollicute infections. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. **14**: 225-233.
- Jarausch, W., Lansac, M., Bliot, C. & Dosba, F. (1999) Phytoplasma transmission by in vitro graft inoculation as a basis for a preliminary screening method for resistance in fruit trees. *Plant Pathology*. **48**: 283-287.
- Jeger, M.J., Holt, J., Bosch, F.V.D. & Madden, L.V. (2004) Epidemiology of insect-transmitted plant viruses: modelling disease dynamics and control interventions. *Physiological Entomology*. **29**: 291-304.
- Jiang, Y.X., De Blas, C., Barrios, L. & Fereres, A. (2000) Correlation between whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) feeding behavior and transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Virus. *Annals of the Entomological Society of America*. **93**: 573-579.
- Jiang, Y.X., Nombela, G. & Muniz, M. (2001) Analysis by DC-EPG of the resistance to *Bemisia tabaci* on an *Mi*-tomato line. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **99**: 295-302.
- Jin, M. & Baoyu, H. (2007) Probing behavior of the tea green leafhopper on different tea plant cultivars. *Acta Ecologica Sinica*. **27**: 3973-3982.
- Johannesen, J., Lux, B., Michel, K., Seitz, A. & Maixner, M. (2008) Invasion biology and host specificity of the grapevine yellows disease vector *Hyalesthes obsoletus* in Europe. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **126**: 217-227.
- Johnson, D.D., Walker, G.P. & Creamer, R. (2002) Stylet penetration behavior resulting in inoculation of a semipersistently transmitted closterovirus by the whitefly *Bemisia argentifolii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **102**: 115-123.
- Joly, P.B., Marris, C. & Bertrand, A. (2004) Mettre les choix scientifiques et techniques en débat : l'expérience d'"évaluation technologique interactive" des recherches sur les OGM-vigne à l'INRA. *INRA Sciences Sociales*. **18**: 4 pp.
- Jonas, J.L. & Joern, A. (2008) Host-plant quality alters grass/forb consumption by a mixed-feeding insect herbivore, *Melanoplus bivittatus* (Orthoptera : Acrididae). *Ecological Entomology*. **33**: 546-554.
- Jones, B.N., PääBo, S. & Stein, S. (1981) Amino acid analysis and enzymatic sequence determination of peptides by an improved *o*-phthaldialdehyde precolumn labeling procedure. *Journal of Liquid Chromatography*. **4**: 565 - 586.
- Junqueira, A., Bedendo, I. & Pascholati, S. (2004) Biochemical changes in corn plants infected by the maize bushy stunt phytoplasma. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **65**: 181-185.
- Kaminska, M. & Korbin, M. (1999) Graft and dodder transmission of phytoplasma affecting lily to experimental hosts. *Acta Physiologiae Plantarum*. **21**: 21-26.
- Karley, A.J., Douglas, A.E. & Parker, W.E. (2002) Amino acid composition and nutritional quality of potato leaf phloem sap for aphids. *Journal of Experimental Biology*. **205**: 3009-3018.
- Kawakita, H., Saiki, T., Wei, W., Mitsushashi, W., Watanabe, K. & Sato, M. (2000) Identification of mulberry dwarf phytoplasmas in the genital organs and eggs of leafhopper *Hishimonoides sellatiformis*. *Phytopathology*. **90**: 909-914.
- Kay, R.H. (1976) Behavioural components of pheromonal aggregation in *Aphis fabae* Scopoli. *Physiological Entomology*. **1**: 249-254.
- Kidd, N.A.C. (1976) Aggregation in the lime aphid (*Eucallipterus tiliae* L.). *Oecologia*. **25**: 175-185.



- Killiny, N. & Almeida, R.P.P. (2009) Host structural carbohydrate induces vector transmission of a bacterial plant pathogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. **106**: 22416-22420.
- King, R.W. & Zeevaart, J.A.D. (1974) Enhancement of phloem exudation from cut petioles by chelating agents. *Plant Physiology*. **53**: 96-103.
- Kingsolver, J.G. & Huey, R.B. (2008) Size, temperature, and fitness: three rules. *Evolutionary Ecology Research*. **10**: 251-268.
- Kivela, S.M. & Valimaki, P. (2008) Competition between larvae in a butterfly *Pieris napi* and maintenance of different life-history strategies. *Journal of Animal Ecology*. **77**: 529-539.
- Kliwer, W.M. & Soleimani, A. (1972) Effect of chilling on budbreak in 'Thompson Seedless' and 'Carignane' grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*. **23**: 31-34.
- Korcz, A., Olejarski, P. & Paradowska, R. (1998) Research investigations of biology, ecology, occurrence and harmfulness of *Piesma quadratum* Fieb. (Heteroptera: Piesmidae) in Poland. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. **31**: 323-334.
- Kral, K. & Stelzl, M. (1998) Daily visual sensitivity pattern in the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Neuroptera : Chrysopidae). *European Journal of Entomology*. **95**: 327-333.
- Krnjajic, S., Mitrovic, M., Cvrkovic, T., Jovic, J., Petrovic, A., Forte, V., Angelini, E. & Tosevski, I. (2007) Occurrence and distribution of *Scaphoideus titanus* in multiple outbreaks of "flavescence doree" in Serbia. *Bulletin of Insectology*. **60**: 197-198.
- Kroon, A. & Veenendaal, R.L. (1998) Trade-off between diapause and other life-history traits in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Ecological Entomology*. **23**: 298-304.
- Kummert, J. & Lepoivre, P. (2003) Le diagnostic : détection et identification des agents phytopathogènes. *Phytopathologie : bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte* (ed P. Lepoivre), pp. 215-230. De Boeck Université.
- Kuszala, C. (1986) Influence du sexe et de l'âge des insectes vecteurs injectés dans l'épreuve d'infectivité des jaunisses des plantes. Mesure radiographique du volume injecté à *Euscelidius variegatus* (Kirschbaum). *Agronomie*. **6**: 591-598.
- Kvarnemo, C. & Ahnesjö, I. (1996) The dynamics of operational sex ratios and competition for mates. *Trends in Ecology & Evolution*. **11**: 404-408.
- Labandeira, C.C. (1997) Insect mouthparts: Ascertaining the paleobiology of insect feeding strategies. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **28**: 153-193.
- Labuda, M., Jones, L.D., Williams, T., Danielova, V. & Nuttall, P.A. (1993) Efficient transmission of tick-borne encephalitis virus between co-feeding ticks. *Journal of Medical Entomology*. **30**: 295-299.
- Laimer, M., Lemaire, O., Herrbach, E., Goldschmidt, V., Minafra, A., Bianco, P. & Wetzell, T. (2009) Resistance to viruses, phytoplasmas and their vectors in the grapevine in Europe. *Journal of Plant Pathology*. **91**: 7-23.
- Landolt, P. (1997) Sex attractant and aggregation pheromones of male phytophagous insects. *American Entomologist*. **43**: 12-21.
- Lawrence, R.K., Mattson, W.J. & Haack, R.A. (1997) White spruce and the spruce budworm: Defining the phenological window of susceptibility. *Canadian Entomologist*. **129**: 291-318.
- Lecaherec, F., Guillam, M.T., Beuron, F., Cavalier, A., Thomas, D., Gouranton, J. & Hubert, J.F. (1997) Aquaporin-related proteins in the filter chamber of homopteran insects. *Cell and Tissue Research*. **290**: 143-151.
- Lee, I.-M., Klopmeier, M., Bartoszyk, I.M., Gundersen-Rindal, D.E., Chou, T.-S., Thomson, K.L. & Eisenreich, R. (1997) Phytoplasma induced free-branching in commercial poinsettia cultivars. *Nature Biotechnology*. **15**: 178-182.

- Lee, I.M., Davis, R.E. & Gundersen-Rindal, D.E. (2000) Phytoplasma: Phytopathogenic mollicutes. *Annual Review of Microbiology*. **54**: 221-255.
- Lefol, C., Caudwell, A., Lherminier, J. & Larrue, J. (1993) Attachment of the flavescence dorée pathogen (MLO) to leafhopper vectors and other insects. *Annals of Applied Biology*. **123**: 611-622.
- Lefol, C., Lherminier, J., Boudon-Padieu, E., Larrue, J., Louis, C. & Caudwell, A. (1994) Propagation of flavescence dorée MLO (Mycoplasma-like organism) in the leafhopper vector *Euscelidius variegatus* Kbm. *Journal of invertebrate pathology*. **63**: 285-293.
- Lei, H., Van Lenteren, J.C. & Xu, R.M. (2001) Effects of plant tissue factors on the acceptance of four greenhouse vegetable host plants by the greenhouse whitefly: an Electrical Penetration Graph (EPG) study. *European Journal of Entomology*. **98**: 31-36.
- Lepka, P., Stitt, M., Moll, E. & Seemüller, E. (1999) Effect of phytoplasmal infection on concentration and translocation of carbohydrates and amino acids in periwinkle and tobacco. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **55**: 59-68.
- Lepoivre, P. (2003) Les procaryotes phytopathogènes. *Phytopathologie : bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte* (ed P. Lepoivre), pp. 79-109. De Boeck Université.
- Lessio, F. & Alma, A. (2004a) Dispersal patterns and chromatic response of *Scaphoideus titanus* ball (Homoptera Cicadellidae), vector of the phytoplasma agent of grapevine flavescence doree. *Agricultural and Forest Entomology*. **6**: 121-127.
- Lessio, F. & Alma, A. (2004b) Seasonal and daily movement of *Scaphoideus titanus* ball (Homoptera : Cicadellidae). *Environmental Entomology*. **33**: 1689-1694.
- Lessio, F. & Alma, A. (2006) Spatial distribution of nymphs of *Scaphoideus titanus* (Homoptera : Cicadellidae) in grapes, and evaluation of sequential sampling plans. *Journal of Economic Entomology*. **99**: 578-582.
- Lessio, F., Tedeschi, R. & Alma, A. (2007) Presence of *Scaphoideus titanus* on American grapevine in woodlands, and infection with "flavescence doree" phytoplasmas. *Bulletin of Insectology*. **60**: 373-374.
- Lessio, F., Borgogno Mondino, E. & Alma, A. (2009a) Spatial correlation of *Scaphoideus titanus* Ball adults on European grapevine at a plot scale: a case study. *Extended abstracts 16<sup>th</sup> Meeting of ICVG*. Le Progrès Agricole et Viticole. Hors série: 166-167, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009.
- Lessio, F., Tedeschi, R., Pajoro, M. & Alma, A. (2009b) Seasonal progression of sex ratio and phytoplasma infection in *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). *Bulletin of Entomological Research*. **99**: 377-383.
- Lett, J.-M., Granier, M., Grondin, M., Turpin, P., Molinaro, F., Chiroleu, F., Peterschmitt, M. & Reynaud, B. (2001) Electrical penetration graphs from *Cicadulina mbila* on maize, the fine structure of its stylet pathways and consequences for virus transmission efficiency. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **101**: 93-109.
- Levadoux, L. (1955) L'état sanitaire et la sélection du Bacco 22 A. *Agriculture*. **18**: 257-259.
- Libersat, F., Delago, A. & Gal, R. (2009) Manipulation of host behavior by parasitic insects and insect parasites. *Annual Review of Entomology*. **54**: 189-207.
- Lihoreau, M. & Rivault, C. (2008) Tactile stimuli trigger group effects in cockroach aggregations. *Animal Behaviour*. **75**: 1965-1972.
- Lihoreau, M., Brepson, L. & Rivault, C. (2009) The weight of the clan: even in insects, social isolation can induce a behavioural syndrome. *Behavioural Processes*. **82**: 81-84.
- Limburg, D.D., Mauk, P.A. & Godfrey, L.D. (1997) Characteristics of Beet Yellows Closterovirus transmission to sugar beets by *Aphis fabae*. *Phytopathology*. **87**: 766-771.

- Linder, C. & Jermini, M. (2007) Biologie et distribution du vecteur de la flavescence dorée dans les vignobles. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*. **97**: 97-101.
- Lockwood, J.A. & Story, R.N. (1986) Adaptive functions of nymphal aggregation in the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology*. **15**: 739-749.
- Logiudice, K., Ostfeld, R.S., Schmidt, K.A. & Keesing, F. (2003) The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **100**: 567-571.
- Lucchi, A., Mazzoni, V., Presern, J. & Virant-Doberlet, M. (2004) Mating behaviour of *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). *3<sup>rd</sup> European Hemiptera Congress*. Saint Petersburg, Russia.
- Madden, L.V. & Nault, L.R. (1983) Differential pathogenicity of corn stunting mollicutes to leafhopper vectors in *Dalbulus* and *Balbulus* species. *Phytopathology*. **73**: 1608-1614.
- Magud, B. & Tosevski, I. (2004) *Scaphoideus titanus* Ball. (Homoptera, Cicadellidae): a new pest in Serbia. *Biljni Lekar (Plant Doctor)*. **32**: 348-349, 351-352.
- Maixner, M., Pearson, R.C., Boudon-Padieu, E. & Caudwell, A. (1993) *Scaphoideus titanus*, a Possible Vector of Grapevine Yellows in New York. *Plant Disease*. **77**: 408-413.
- Maixner, M., Ahrens, U. & Seemüller, E. (1995) Detection of the German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) MLO in grapevine, alternative hosts and a vector by a specific PCR procedure. *European Journal of Plant Pathology*. **101**: 241-250.
- Maixner, M., Reinert, W. & Darimont, H. (2000) Transmission of grapevine yellows by *Oncopsis alni* (Schrank) (Auchenorrhyncha : Macropsinae). *Vitis*. **39**: 83-84.
- Maixner, M. (2005) Risks posed by the spread and dissemination of grapevine pathogens and their vectors. *Plant Protection and Plant Health in Europe: Introduction and spread of invasive species* (ed G.F.B. D.V.Alford), pp. 141-146. British Crop Protection Council.
- Maixner, M. (2006) Grapevine yellows - Current developments and unsolved questions. *15th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine*, pp. 86-93. Stellenbosch, South Africa.
- Malagnini, V., Pedrazzoli, F., Gualandri, V., Forno, F., Zasso, R., Pozzebon, A. & Ioriatti, C. (2010) A study of the effects of '*Candidatus Phytoplasma mali*' on the psyllid *Cacopsylla melanoneura* (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Invertebrate Pathology*. **103**: 65-67.
- Malausa, J.C., Nusillard, B. & Giuge, L. (2003) Lutte biologique contre la cicadelle vectrice de la flavescence dorée. *Phytoma*. **565**: 24-27.
- Malausa, T., Salles, M., Marquet, V., Guillemaud, T., Alla, S., Marion-Poll, F. & Lapchin, L. (2006) Within-species variability of the response to 20-hydroxyecdysone in peach-potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer). *Journal of Insect Physiology*. **52**: 480-486.
- Malembic-Maher, S., Le Gall, F., Danet, J.L., De Borne, F.D., Bove, J.M. & Garnier-Semancik, M. (2005) Transformation of tobacco plants for single-chain antibody expression via apoplastic and symplasmic routes, and analysis of their susceptibility to stolbur phytoplasma infection. *Plant Science*. **168**: 349-358.
- Malembic-Maher, S., Constable, F., Cimerman, A., Arnaud, G., Carle, P., Foissac, X. & Boudon-Padieu, E. (2008) A chromosome map of the Flavescence dorée phytoplasma. *Microbiology*. **154**: 1454-1463.
- Malembic-Maher, S., Salar, P., Carle, P. & Foissac, X. (2009) Ecology and taxonomy of Flavescence dorée phytoplasmas: the contribution of genetic diversity studies. *Extended abstracts 16<sup>th</sup> Meeting of ICVG*. Le Progrès Agricole et Viticole. Hors série: 132-133, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009.

- Malmstrom, C.M., Hughes, C.C., Newton, L.A. & Stoner, C.J. (2005) Virus infection in remnant native bunchgrasses from invaded California grasslands. *New Phytologist*. **168**: 217-230.
- Maramorosch, K. & Jensen, D.D. (1963) Harmful and beneficial effects of plant viruses in insects. *Annual Review of Microbiology*. **17**: 495-530.
- Mann, R.S., Sidhu, J.S. & Butter, N.S. (2009) Settling preference of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) on healthy versus cotton leaf curl virus-infected cotton plants. *International Journal of Tropical Insect Science*. **29**: 57-61.
- Mao, L.X. & Henderson, G. (2010) Group size effect on worker juvenile hormone titers and soldier differentiation in Formosan subterranean termite. *Journal of Insect Physiology*. **56**: 725-730.
- Marchi, S., Tognetti, R., Minnocci, A., Borghi, M. & Sebastiani, L. (2008) Variation in mesophyll anatomy and photosynthetic capacity during leaf development in a deciduous mesophyte fruit tree (*Prunus persica*) and an evergreen sclerophyllous Mediterranean shrub (*Olea europaea*). *Trees - Structure and Function*. **22**: 559-571.
- Marco, S. (1986) Incidence of aphid transmitted virus infections reduced by whitewash sprays on plants. *Phytopathology*. **76**: 1344-1348.
- Marcone, C., Ragozzino, A. & Seemüller, E. (1997) Dodder transmission of alder yellows phytoplasma to the experimental host *Catharanthus roseus* (periwinkle). *European Journal of Forest Pathology*. **27**: 347-350.
- Marcone, C., Hergenahm, F., Ragozzino, A. & Seemüller, E. (1999a) Dodder transmission of pear decline, European stone fruit yellows, rubus stunt, *Picris echioides* yellows and cotton phyllody phytoplasmas to periwinkle. *Journal of Phytopathology*. **147**: 187-192.
- Marcone, C., Neimark, H., Ragozzino, A., Lauer, U. & Seemüller, E. (1999b) Chromosome sizes of phytoplasmas composing major phylogenetic groups and subgroups. *Phytopathology*. **89**: 805-810.
- Marcone, C., Jarausch, B. & Jarausch, W. (2010) *Candidatus* phytoplasma prunorum, the causal agent of European stone fruit yellows: an overview. *Journal of Plant Pathology*. **92**: 19-34.
- Marden, J.H. (2000) Variability in the size, composition, and function of insect flight muscles. *Annual Review of Physiology*. **62**: 157-178.
- Margaria, P. & Palmano, S. (2009) Proteomic analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Nebbiolo) midrib tissues infected by Flavescence dorée phytoplasma. *Extended abstracts 16<sup>th</sup> Meeting of ICVG*. Le Progrès Agricole et Viticole. Hors série: 155-156, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009.
- Maris, P.C., Joosten, N.N., Goldbach, R.W. & Peters, D. (2004) Tomato spotted wilt virus infection improves host suitability for its vector *Frankliniella occidentalis*. *Phytopathology*. **94**: 706-711.
- Marko, V., Blommers, L.H.M., Bogy, S. & Helsen, H. (2008) Kaolin particle films suppress many apple pests, disrupt natural enemies and promote woolly apple aphid. *Journal of Applied Entomology*. **132**: 26-35.
- Martini, M., Murari, E., Mori, N. & Bertaccini, A. (1999) Identification and epidemic distribution of two flavescence doree-related phytoplasmas in Veneto (Italy). *Plant Disease*. **83**: 925-930.
- Martini, M., Botti, S., Marcone, C., Marzachi, C., Casati, P., Bianco, P.A., Benedetti, R. & Bertaccini, A. (2002) Genetic variability among flavescence dorée phytoplasmas from different origins in Italy and France. *Molecular and Cellular Probes*. **16**: 197-208.
- Marzorati, M., Alma, A., Sacchi, L., Pajoro, M., Palermo, S., Brusetti, L., Raddadi, N., Balloi, A., Tedeschi, R., Clementi, E., Corona, S., Quaglino, F., Bianco, P.A., Beninati, T., Bandi, C. & Daffonchio, D. (2006) A novel bacteroidetes symbiont is localized in



- Scaphoideus titanus*, the insect vector of flavescence doree in *Vitis vinifera*. *Applied and Environmental Microbiology*. **72**: 1467-1475.
- Masse, N.Y., Turner, G.C. & Jefferis, G. (2009) Olfactory information processing in *Drosophila*. *Current Biology*. **19**: R700-R713.
- Matsuyama, T. & Kuba, H. (2009) Mating time and call frequency of males between mass-reared and wild strains of melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae). *Applied Entomology and Zoology*. **44**: 309-314.
- Mattson, W.J. (1980) Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **11**: 119-161.
- Maw, H.E.L., Footitt, R.G., Hamilton, K.G.A. & Scudder, G.G.E. (2000) *Checklist of the Hemiptera of Canada and Alaska*. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 220 pp.
- Mayer, C.J., Vilcinskis, A. & Gross, J. (2008a) Pathogen-induced release of plant allomone manipulates vector insect behavior. *Journal of Chemical Ecology*. **34**: 1518-1522.
- Mayer, C.J., Vilcinskis, A. & Gross, J. (2008b) Phytopathogen lures its insect vector by altering host plant odor. *Journal of Chemical Ecology*. **34**: 1045-1049.
- Mazzoni, V., Ioriatti, C., Trona, F., Lucchi, A., De Cristofaro, A. & Anfora, G. (2009a) Study on the role of olfaction in host plant detection of *Scaphoideus titanus* (Hemiptera: Cicadellidae) nymphs. *Journal of Economic Entomology*. **102**: 974-980.
- Mazzoni, V., Lucchi, A., Cokl, A., Prešern, J. & Virant-Doberlet, M. (2009b) Disruption of the reproductive behaviour of *Scaphoideus titanus* by playback of vibrational signals. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **133**: 174-185.
- Mazzoni, V., Prešern, J., Lucchi, A. & Virant-Doberlet, M. (2009c) Reproductive strategy of the Nearctic leafhopper *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). *Bulletin of Entomological Research*. **99**: 401-413.
- Mccall, P.J. & Kelly, D.W. (2002) Learning and memory in disease vectors. *Trends in Parasitology*. **18**: 429-433.
- Mclean, D.L. & Kinsey, M.G. (1964) A technique for electronically recording aphid feeding and salivation. *Nature*. **202**: 1358-1359.
- Mclean, D.L. & Kinsey, M.G. (1965) Identification of electrically recorded curve patterns associated with aphid salivation and ingestion. *Nature*. **205**: 1130-1131.
- Meats, A., Holmes, H.M. & Kelly, G.L. (2004) Laboratory adaptation of *Bactrocera tryoni* (Diptera : Tephritidae) decreases mating age and increases protein consumption and number of eggs produced per milligram of protein. *Bulletin of Entomological Research*. **94**: 517-524.
- Meignoz, R., Boudon-Padieu, E., Larrue, J. & Caudwell, A. (1992) Flavescence dorée de la vigne. Présence de MLO et effets cytopathogènes associés, dans le liber de la vigne. *Journal of Phytopathology*. **134**: 1-9.
- Menu, F. & Desouhant, E. (2002) Bet-hedging for variability in life cycle duration: bigger and later-emerging chestnut weevils have increased probability of a prolonged diapause. *Oecologia*. **132**: 167-174.
- Menu, F. & Desouhant, E. (2011) Chapitre 16. Synchronisation des cycles de reproduction des insectes et des plantes. *Des Insectes et des Plantes* (ed N. Sauvion, Calatayud P-A., Thiéry D., Marion-Poll F.), pp. 273-282. Ed. IRD & Publibook, France, px-x, in press.
- Metcalf, Z.P. (1967) General Catalogue of the Homoptera. *Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 10. Section III. Euscelidae*, pp. 2075-2695. U.S. Department of Agriculture, Agriculture Research Service.
- Meyer, J.B., Kasdorf, G.G.F., Nel, L.H. & Pietersen, G. (2008) Transmission of activated-episomal *Banana streak OL (badna)virus* (BSOLV) to cv. Williams banana (*Musa sp.*) by three mealybug species. *Plant Disease*. **92**: 1158-1163.

- Michaud, J.P. (1999) Aggregation by alatae of *Toxoptera citricida* (Homoptera : Aphididae). *Environmental Entomology*. **28**: 205-211.
- Miller, J.R., Siegert, P.Y., Amimo, F.A. & Walker, E.D. (2009) Designation of chemicals in terms of the locomotor responses they elicit from insects: an update of Dethier et al. (1960). *Journal of Economic Entomology*. **102**: 2056-2060.
- Mink, G.I. (1993) Pollen and seed-transmitted viruses and viroids. *Annual Review of Phytopathology*. **31**: 375-402.
- Miranda, M.P., Fereres, A., Appezzato-Da-Gloria, B. & Lopes, J.R.S. (2009) Characterization of electrical penetration graphs of *Bucephalagonia xanthophis*, a vector of *Xylella fastidiosa* in citrus. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **130**: 35-46.
- Mitchell, R.F. & Hanks, L.M. (2009) Insect frass as a pathway for transmission of bacterial wilt of cucurbits. *Environmental Entomology*. **38**: 395-403.
- Mondor, E.B., Roitberg, B.D. & Stadler, B. (2002) Cornicle length in Macrosiphini aphids: a comparison of ecological traits. *Ecological Entomology*. **27**: 758-762.
- Montllor, C.B. & Tjallingii, W.F. (1989) Stylet penetration by two aphid species on susceptible and resistant lettuce. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **52**: 103-111.
- Mooney, H.A. & Gulmon, S.L. (1982) Constraints on leaf structure and function in reference to herbivory. *Bioscience*. **32**: 198-206.
- Morales, M.A., Barone, J.L. & Henry, C.S. (2008) Acoustic alarm signalling facilitates predator protection of treehoppers by mutualist ant bodyguards. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*. **275**: 1935-1941.
- Morbey, Y.E. & Ydenberg, R.C. (2001) Protandrous arrival timing to breeding areas: a review. *Ecology Letters*. **4**: 663-673.
- Moreau, J., Thiéry, D., Troussard, J.P. & Benrey, B. (2007) Grape variety affects female but also male reproductive success in wild European grapevine moths. *Ecological Entomology*. **32**: 747-753.
- Moreno, A., Palacios, I., Blanc, S. & Fereres, A. (2005) Intracellular salivation is the mechanism involved in the inoculation of cauliflower mosaic virus by its major vectors *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae*. *Annals of the Entomological Society of America*. **98**: 763-769.
- Mori, N., Bressan, A., Martini, M., Guadagnini, M., Girolami, V. & Bertaccini, A. (2002) Experimental transmission by *Scaphoideus titanus* ball of two Flavescence dorée-type phytoplasmas. *Vitis*. **41**: 99-102.
- Morone, C., Boveri, M., Giosue, S., Gotta, P., Rossi, V., Scapin, I. & Marzachi, C. (2007) Epidemiology of flavescence dorée in vineyards in northwestern Italy. *Phytopathology*. **97**: 1422-1427.
- Moutous, G. & Fos, A. (1977) Définitions des symptômes de la "Flavescence dorée" sur les variétés porte-greffes. *Revue de Zoologie Agricole et de Pathologie Végétale*. **76**: 90-98.
- Moutous, G. & Hevin, M. (1986) Transmission expérimentale de la maladie de l'écorce liégeuse de la vigne, « corky-bark », par la cicadelle *Scaphoideus littoralis* Ball. (Homoptera Jassidae). *Agronomie*. **6**: 387-392.
- Muller, K.L. (1998) The role of conspecifics in habitat settlement in a territorial grasshopper. *Animal Behaviour*. **56**: 479-485.
- Musetti, R., Favali, M.A. & Pressacco, L. (2000) Histopathology and polyphenol content in plants infected by phytoplasmas. *Cytobios*. **102**: 133-147.
- Musetti, R., Marabottini, R., Badiani, M., Martini, M., Di Toppi, L.S., Borselli, S., Borgo, M. & Osler, R. (2007) On the role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the recovery of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Prosecco) from Flavescence doree disease. *Functional Plant Biology*. **34**: 750-758.
- Mustaparta, H. (2002) Encoding of plant odour information in insects: peripheral and central mechanisms. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **104**: 1-13.

- Naito, A. (1976) Studies on the feeding habits of some leafhoppers attacking the forage crops. II. A comparison of the feeding habits of the green rice leafhoppers in different developmental stages. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*. **20**: 51-54.
- Nakashima, Y., Teshiba, M. & Hirose, Y. (2002) Flexible use of patch marks in an insect predator: effect of sex, hunger state, and patch quality. *Ecological Entomology*. **27**: 581-587.
- Namba, S., Boscia, D., Azzam, O., Maixner, M., Hu, J.S., Golino, D. & Gonsalves, D. (1991) Purification and properties of closterovirus-like particles associated with grapevine corky bark disease. *Phytopathology*. **81**: 964-970.
- Ng, J.C.K. & Falk, B.W. (2006) Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology*. **44**: 183-212.
- Ngumbi, E., Eigenbrode, S.D., Bosque-Perez, N.A., Ding, H. & Rodriguez, A. (2007) *Myzus persicae* is arrested more by blends than by individual compounds elevated in headspace of PLRV-Infected potato. *Journal of Chemical Ecology*. **33**: 1733-1747.
- Nguyen, T.H.N., Borgemeister, C., Max, J. & Poehling, H.M. (2009) Manipulation of ultraviolet light Affects immigration behavior of *Ceratothripoides claratris* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Economic Entomology*. **102**: 1559-1566.
- Nipah, J.O., Jones, P., Hodgetts, J. & Dickinson, M. (2007) Detection of phytoplasma DNA in embryos from coconut palms in Ghana, and kernels from maize in Peru. *Bulletin of Insectology*. **60**: 385-386.
- Niu, L., Hu, H., Huang, D., Fu, Y. & Peng, Z. (2009) Brood size: a major factor influencing male dimorphism in the non-pollinating fig wasp *Sycobia sp.* *Ecological Entomology*. **34**: 696-701.
- Novotny, V. & Wilson, M.R. (1997) Why are there no small species among xylem-sucking insects? *Evolutionary Ecology*. **11**: 419-437.
- Nusillard, B. (2007) *Scaphoideus rubroguttatus* Matsumura, 1914, nouveau pour la faune de France (Hemiptera, Auchenorrhyncha) *Bulletin de la Société Entomologique de France*. **112**: 131-133.
- Nylin, S., Wiklund, C., Wickman, P.-O. & Garcia-Barros, E. (1993) Absence of trade-offs between sexual size dimorphism and early male emergence in a butterfly. *Ecology*. **74**: 1414-1427.
- Nylin, S. & Gotthard, K. (1998) Plasticity in life-history traits. *Annual Review of Entomology*. **43**: 63-83.
- Oberdorster, U. & Grant, P.R. (2007) Acoustic adaptations of periodical cicadas (Hemiptera : Magicicada). *Biological Journal of the Linnean Society*. **90**: 15-24.
- Oerke, E.C. (2006) Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*. **144**: 31-43.
- Oliver, K.M., Degnan, P.H., Burke, G.R. & Moran, N.A. (2010) Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. *Annual Review of Entomology*. **55**: 247-266.
- Olivier, C.Y., Lowery, D.T., Stobbs, L.W., Vincent, C., Saguez, J., Galka, B., Bittner, L.A. & Whybourne, K.J. (2008) Phytoplasma diseases in Canadian vineyards. *Ist International ENDURE Conference*. La Grande Motte, France, October 12-15.
- Orosz, S. & Zsolnai, B. (2010) Survey of the presence of *Scaphoideus titanus* Ball in Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*. **45**: 115-119.
- Osborn, H. & Knull, D.J. (1946) Check list oh Ohio leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Ohio Journal of Science*. **46**: 329-336.
- Oshima, K., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Jung, H.-Y., Wei, W., Suzuki, S., Arashida, R., Nakata, D., Miyata, S.-I., Ugaki, M. & Namba, S. (2004) Reductive evolution suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma. *Nature Genetics*. **36**: 27-29.



- Osler, R., Fortusini, A. & Belli, G. (1975) Presenza di *Scaphoideus littoralis* in vigneti dell'Oltrepò pavese affetti da una malattia tipo "Flavescence dorée". *Informatore Fitopatologico*. **25**: 13-15.
- Papaj, D.R. & Prokopy, R.J. (1989) Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*. **34**: 315-350.
- Papaj, D. (2000) Ovarian dynamics and host use. *Annual Review of Entomology*. **45**: 423-448.
- Papura, D., Van-Helden, M., Giresse, X., Salar, P., Danet, J.L., Foissac, X. & Malembic-Maher, S. (2007) Genetic structure of *Scaphoideus titanus* populations and genetic diversity of the epidemic strains of "flavescence doree" phytoplasma: the situation in France. *Bulletin of Insectology*. **60**: 333-334.
- Papura, D., Delmotte, F., Giresse, X., Salar, P., Danet, J.L., Van Helden, M., Foissac, X. & Malembic-Maher, S. (2009) Comparing the spatial genetic structures of the Flavescence doree phytoplasma and its leafhopper vector *Scaphoideus titanus*. *Infection, Genetics and Evolution*. **9**: 867-876.
- Parrella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassie, K., Vovlas, C. & Marchoux, G. (2003) An update of the host range of tomato spotted wilt virus. *Journal of Plant Pathology*. **85**: 227-264.
- Parrish, J.K., Hamner, W.M. & Prewitt, C.T. (1997) Introduction: from individuals to aggregations: unifying properties, global framework, and the holy grails of congregation. *Animal Groups in Three Dimensions* (ed J.K.P.W.M. Hamner), pp. 1-14. Cambridge: Cambridge University Press.
- Parrott, A. & Logan, J.D. (2010) Effects of temperature variation on TSD in turtle (*C. picta*) populations. *Ecological Modelling*. **221**: 1378-1393.
- Parry, D. (1990) *Plant pathology in agriculture*. Cambridge University Press, Cambridge UK. 385 pp.
- Patil, B.L. & Fauquet, C.M. (2009) Cassava mosaic geminiviruses: actual knowledge and perspectives. *Molecular Plant Pathology*. **10**: 685-701.
- Patt, J.M. & Setamou, M. (2007) Olfactory and visual stimuli affecting host plant detection in *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). *Environmental Entomology*. **36**: 142-150.
- Pavan, F., Villani, A., Fornasier, F. & Girolami, V. (1997) Ruolo del vivaismo nella diffusione della flavescenza dorata. *Informatore Agrario*. **53**: 69-71.
- Pelz, K.S., Isaacs, R., Wise, J.C. & Gut, L.J. (2005) Protection of fruit against infestation by apple maggot and blueberry maggot (Diptera : Tephritidae) using compounds containing spinosad. *Journal of Economic Entomology*. **98**: 432-437.
- Pener, M.P. & Yerushalmi, Y. (1998) The physiology of locust phase polymorphism: an update. *Journal of Insect Physiology*. **44**: 365-377.
- Perring, T.M., Gruenhagen, N.M. & Farrar, C.A. (1999) Management of plant viral diseases through chemical control of insect vectors. *Annual Review of Entomology*. **44**: 457-481.
- Pescod, K.V., Quick, W.P. & Douglas, A.E. (2007) Aphid responses to plants with genetically manipulated phloem nutrient levels. *Physiological Entomology*. **32**: 253-258.
- Pettersson, J. & Stephansson, D. (1991) Odour communication in two brassica feeding aphid species (Homoptera : Aphidinea : Aphididae). *Entomologia Generalis*. **16**: 241-247.
- Picaud, F., Bonnet, E., Gloaguen, V. & Petit, D. (2003) Decision making for food choice by grasshoppers (Orthoptera: Acrididae): Comparison between a specialist species on a shrubby legume and three graminivorous species. *Environmental Entomology*. **32**: 680-688.
- Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M. & Hardie, J. (1992) The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology*. **37**: 67-90.

- Poirier, L.M. & Borden, J.H. (1995) Oral exudate as a mediator of behavior in larval eastern and western spruce budworms (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Insect Behavior*. **8**: 801-811.
- Pompon, J., Quiring, D., Giordanengo, P. & Pelletier, Y. (2010) Role of xylem consumption on osmoregulation in *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas). *Journal of Insect Physiology*. **56**: 610-615.
- Posenato, G., Mori, N., Bressan, A., Girolami, V. & Sancassani, G.P. (2001) *Scaphoideus titanus*, vettore della flavescenza dorata: conoscerlo per combatterlo. *Informatore Agrario*. **57**: 91-93.
- Powell, G., Pirone, T. & Hardie, J. (1995) Aphid stylet activities during potyvirus acquisition from plants and an in vitro system that correlate with subsequent transmission. *European Journal of Plant Pathology*. **101**: 411-420.
- Powell, G. & Hardie, J. (2002) Xylem ingestion by winged aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **104**: 103-108.
- Powell, G., Tosh, C.R. & Hardie, J. (2006) Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Annual Review of Entomology*. **51**: 309-330.
- Powles, S.B. (2008) Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science*. **64**: 360-365.
- Prado, E. (1997) *Aphid-plant interactions at phloem level, a behavioural study*. PhD thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen. 111 pp.
- Prado, E. & Tjallingii, W.F. (1994) Aphid activities during sieve element punctures. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **72**: 157-165.
- Prokopy, R.J. & Owens, E.D. (1983) Visual detection of plants by herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*. **28**: 337-364.
- Prokopy, R.J. & Roitberg, B.D. (2001) Joining and avoidance behavior in nonsocial insects. *Annual Review of Entomology*. **46**: 631-665.
- Purcell, A.H. (1982) Insect vector relationships with procaryotic plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. **20**: 397-417.
- Purcell, A.H. (1988) Increased survival of *Dalbulus maidis*, a specialist on maize, on non-host plants infected with mollicute plant pathogens. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **46**: 187-196.
- Puterka, G., Glenn, D.M., Sekutowski, D.G., Unruh, T.R. & Jones, S.K. (2000) Progress toward liquid formulations of particle films for insect and disease control in pear. *Environmental Entomology*. **29**: 329-339.
- Pyke, D.A. & Thompson, J.N. (1986) Statistical analysis of survival and removal rate experiments. *Ecology*. **67**: 240-245.
- Quartau, J.A., Guimarães, J.M. & André, G. (2001) On the occurrence in Portugal of the nearctic *Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera, Cicadellidae), the natural vector of the grapevine "flavescence dorée" (FD). *Bulletin OILB/SROP*. **24**: 273-276.
- R Development Core Team (2007) *R: a language and environment for statistical computing*. Available at: <http://www.R-project.org>. Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Rahola, J., Reyes, J., Giralt, L., Torres, E. & Barrios, G. (1997) La flavescencia dorada en los vinedos del Alt Emporda (Girona). *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*. **23**: 403-416.
- Rajon, E., Venner, S. & Menu, F. (2009) Spatially heterogeneous stochasticity and the adaptive diversification of dormancy. *Journal of Evolutionary Biology*. **22**: 2094-2103.
- Ramaswamy, K. & Coccoft, R.B. (2009) Collective signals in treehopper broods provide predator localization cues to the defending mother. *Animal Behaviour*. **78**: 697-704.
- Ramírez, C.C. & Niemeyer, H.M. (2000) The influence of previous experience and starvation on aphid feeding behavior. *Journal of Insect Behavior*. **13**: 699-709.
- Ranger, C.M., Winter, R.E.K., Backus, E.A., Rottinghaus, G.E., Ellersieck, M.R. & Johnson, D.W. (2005) Discrimination by the potato leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) of

- host volatiles from resistant and susceptible alfalfa, *Medicago sativa* L. *Environmental Entomology*. **34**: 271-280.
- Redak, R.A., Purcell, A.H., Lopes, J.R.S., Blua, M.J., Mizell, R.F. & Andersen, P.C. (2004) The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Review of Entomology*. **49**: 243-270.
- Reuter, L.L., Toscano, N.C. & Perring, T.M. (1993) Modification of feeding behavior of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) by selected compounds. *Environmental Entomology*. **22**: 915-919.
- Riehle, M.A. & Jacobs-Lorena, M. (2005) Using bacteria to express and display anti-parasite molecules in mosquitoes: current and future strategies. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. **35**: 699-707.
- Roberts, A.G. & Oparka, K.J. (2003) Plasmodesmata and the control of symplastic transport. *Plant, Cell and Environment*. **26**: 103-124.
- Roberts, D. & Kokkinn, M. (2010) Larval crowding effects on the mosquito *Culex quinquefasciatus*: physical or chemical? *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **135**: 271-275.
- Rogers, S.M., Matheson, T., Despland, E., Dodgson, T., Burrows, M. & Simpson, S.J. (2003) Mechanosensory-induced behavioural gregarization in the desert locust *Schistocerca gregaria*. *Journal of Experimental Biology*. **206**: 3991-4002.
- Rossi, A.M. & Strong, D.R. (1991) Effects of host-plant nitrogen on the preference and performance of laboratory populations of *Carneiocephala floridana* (Homoptera, Cicadellidae). *Environmental Entomology*. **20**: 1349-1355.
- Rudzinska-Langwald, A. & Kaminska, M. (1999) Cytopathological evidence for transport of phytoplasma in infected plants. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. **68**: 261-266.
- Sabelis, M.W. & Schippers, P. (1984) Variable wind directions and anemotactic strategies of searching for an odour plume. *Oecologia*. **63**: 225-228.
- Sacchi, L., Genchi, M., Clementi, E., Bighardi, E., Avanzati, A.M., Pajoro, M., Negri, I., Marzorati, M., Gonella, E., Alma, A., Daffonchio, D. & Bandi, C. (2008) Multiple symbiosis in the leafhopper *Scaphoideus titanus* (Hemiptera : Cicadellidae): details of transovarial transmission of *Cardinium* sp and yeast-like endosymbionts. *Tissue & Cell*. **40**: 231-242.
- Salar, P., Clair, D., Foissac, X., Boudon-Padieu, E. & Malembic-Maher, S. (2009) Comparison of prevalence, geographical distribution and biological properties of two Flavescence dorée phytoplasma strains. *Extended abstracts 16<sup>th</sup> Meeting of ICVG*. Le Progrès Agricole et Viticole. Hors série: 137-138, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009.
- Salar, P., Sémétey, O., Danet, J.-L., Boudon-Padieu, E. & Foissac, X. (2010) 'Candidatus Phlomobacter fragariae' and the proteobacterium associated with the low sugar content syndrome of sugar beet are related to bacteria of the arsenophonus clade detected in hemipteran insects. *European Journal of Plant Pathology*. **126**: 123-127.
- Santinelli, C., Santoni, M., Braccini, P., Botti, S. & Bertaccini, A. (2003) Trovato in Umbria *Scaphoideus titanus*, vettore della flavescenza dorata. *L'Informatore Agrario*. **15**: 81-82.
- Sasaki, T. & Ishikawa, H. (1995) Production of essential amino acids from glutamate by mycetocyte symbionts of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology*. **41**: 41-46.
- Saunders, D.S., Wheeler, I.A. & Kerr, A. (1999) Survival and reproduction of small blow flies (*Calliphora vicina*; Diptera: Calliphoridae) produced in severely overcrowded short-day larval cultures. *European Journal of Entomology*. **96**: 19-22.
- Sauvion, N. & Rahbe, Y. (1999) Etude du comportement alimentaire des Hémiptères par la méthode EPG : revue sur le principe, la mise en œuvre et les domaines d'application. *Annales de la Société Entomologique De France*. **35**: 175-183.

- Sauvion, N., Charles, H., Febvay, G. & Rahbé, Y. (2004) Effects of jackbean lectin (ConA) on the feeding behaviour and kinetics of intoxication of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **110**: 31-44.
- Saxena, K.N., Gandhi, J.R. & Saxena, R.C. (1974) Patterns of relationship between certain leafhoppers and plants. I. Responses to plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **17**: 303-318.
- Saxena, K.N. & Saxena, R.C. (1974) Patterns of relationship between certain leafhoppers and plants. Part II. Role of sensory stimuli in orientation and feeding. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **17**: 495-503.
- Schaerer, S., Johnston, H., Gugerli, P., Linder, C., Shaub, L. & Colombi, L. (2007) "Flavescence dorée" in Switzerland: spread of the disease in canton of Ticino and of its insect vector, now also in cantons of Vaud and Geneva. *Bulletin of Insectology*. **60**: 375-376.
- Scheller, H.V. & Shukle, R.H. (1986) Feeding behavior and transmission of barley yellow dwarf virus by *Sitobion avenae* on oats. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **40**: 189-195.
- Schmutterer, H. (1990) Properties and potential of natural pesticides from the neem tree *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*. **35**: 271-297.
- Schroeder, R. & Hilker, M. (2008) The relevance of background odor in resource location by insects: A behavioral approach. *Bioscience*. **58**: 308-316.
- Schvester, D., Carle, P. & Moutous, G. (1961) Sur la transmission de la Flavescence dorée des vignes par une cicadelle. *Comptes Rendu de l'Académie Agricole de France*. **47**: 1021-1024.
- Schvester, D. (1962) Sur les causes de la propagation en Armagnac et en Chalosse de la Flavescence dorée de la vigne. *Revue de Zoologie Agricole et Appliquée*. **10-12**: 132-135.
- Schvester, D., Moutous, G., Bonfils, J. & Carle, P. (1962a) Étude biologique des cicadelles de la vigne dans le Sud-Ouest de la France. *Annales des Epiphyties*. **13**: 205-237.
- Schvester, D., Moutous, G. & Carle, P. (1962b) *Scaphoideus littoralis* Ball. (Homopt. Jassidae) cicadelle vectrice de la Flavescence dorée de la vigne. *Revue de Zoologie Agricole et Appliquée*. **10-12**: 118-131.
- Schvester, D. (1969) Traitements insecticides et guérison des vignes atteintes de Flavescence dorée. *Annales de Zoologie Ecologie Animale*. **1**: 467-494.
- Schvester, D., Carle, A. & Moutous, G. (1969) Nouvelles données sur la transmission de la Flavescence dorée de la vigne par *Scaphoideus littoralis* Ball. *Annales de Zoologie Ecologie Animale*. **1**: 445-465.
- Scott, J.A. (1977) Competitive exclusion due to mate searching behaviour, male-female emergence lags and fluctuation in number of progeny in model invertebrate populations. *Journal of Animal Ecology*. **46**: 909-924.
- Scriber, J.M. & Slansky, F. (1981) The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology*. **26**: 183-211.
- Seljak, G. (1987) *Scaphoideus titanus* Ball (= *Sc. littoralis* Ball), a new pest of grapevine in Yugoslavia. *Zastita Bilja*. **38**: 349-357.
- Seljak, G. (2008) Distribution of *Scaphoideus titanus* in Slovenia: its new significance after the first occurrence of grapevine "flavescence dorée". *Bulletin of Insectology*. **61**: 201-202.
- Sequeira, R.V. & Moore, A.D. (2003) Aggregative oviposition behaviour of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera : Noctuidae) in contaminated chickpea crops. *Australian Journal of Entomology*. **42**: 29-34.
- Sforza, R., Boudon-Padieu, E. & Greif, C. (2003) New Mealybug Species Vectoring Grapevine Leafroll-Associated Viruses-1 and -3 (GLRaV-1 and -3). *European Journal of Plant Pathology*. **109**: 975-981.



- Sharon, R., Soroker, V., Wesley, S.D., Zahavi, T., Harari, A. & Weintraub, P.G. (2005) *Vitex agnus-castus* is a preferred host plant for *Hyalesthes obsoletus*. *Journal of Chemical Ecology*. **31**: 1051-1063.
- Shieh, J.N., Berry, R.E., Reed, G.L. & Rossignol, P.A. (1994) Feeding activity of green peach aphid (Homoptera, Aphididae) on transgenic potato expressing a *Bacillus thuringiensis* ssp *tenebrionis* d-endotoxin gene. *Journal of Economic Entomology*. **87**: 618-622.
- Shine, R. (2004) Seasonal shifts in nest temperature can modify the phenotypes of hatchling lizards, regardless of overall mean incubation temperature. *Functional Ecology*. **18**: 43-49.
- Shriram, A.N., Ramaiah, K.D., Krishnamoorthy, K. & Sehgal, S.C. (2005) Diurnal pattern of human-biting activity and transmission of subperiodic *Wuchereria bancrofti* (Filariidea: Dipetalonematidae) by *Ochlerotatus niveus* (Diptera: Culicidae) on the Andaman and Nicobar islands of India. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **72**: 273-277.
- Sibly, R.M. & Calow, P. (1986) *Physiological ecology of animals: an evolutionary approach*. Blackwell, Oxford. 179 pp.
- Sibly, R.M. & Atkinson, D. (1994) How rearing temperature affects optimal adult size in ectotherms. *Functional Ecology*. **8**: 486-493.
- Sinclair, W.A. & Griffiths, H.M. (2000) Variation in aggressiveness of ash yellows phytoplasmas. *Plant Disease*. **84**: 282-288.
- Sinclair, W.A., Townsend, A.M., Griffiths, H.M. & Whitlow, T.H. (2000) Responses of six Eurasian *Ulmus* cultivars to a North American elm yellows phytoplasma. *Plant Disease*. **84**: 1266-1270.
- Sisterson, M.S. (2008) Effects of insect-vector preference for healthy or infected plants on pathogen spread: insights from a model. *Journal of Economic Entomology*. **101**: 1-8.
- Sisterson, M.S. (2009) Transmission of insect-vectored pathogens: effects of vector fitness as a function of infectivity status. *Environmental Entomology*. **38**: 345-355.
- Slone, D.H. & Gruner, S.V. (2007) Thermoregulation in larval aggregations of carrion-feeding blow flies (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*. **44**: 516-523.
- Smith, F.F. & Webb, R.E. (1969) Repelling aphids by reflective surface a new approach to the control of insect transmitted viruses. *Viruses Vectors and Vegetation* (ed K. Maramorosch), pp. 631-639. Interscience Publishers, New York.
- Stafford, C.A. & Walker, G.P. (2009) Characterization and correlation of DC electrical penetration graph waveforms with feeding behavior of beet leafhopper, *Circulifer tenellus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **130**: 113-129.
- Stafford, C.A., Walker, G.P. & Creamer, R. (2009) Stylet penetration behavior resulting in inoculation of beet severe curly top virus by beet leafhopper, *Circulifer tenellus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **130**: 130-137.
- Stamps, J. (1988) Conspecific attraction and aggregation in territorial species. *American Naturalist*. **131**: 329-347.
- Steffek, R., Reizenzein, H. & Zeisner, N. (2007) Analysis of the pest risk from Grapevine flavescence dorée phytoplasma to Austrian viticulture. *EPPO Bulletin*. **37**: 191-203.
- Stelinski, L.L., Oakleaf, R. & Rodriguez-Saona, C. (2007) Oviposition-detering pheromone deposited on blueberry fruit by the parasitic wasp, *Diachasma alloeum*. *Behaviour*. **144**: 429-445.
- Stenberg, J.A. & Ericson, L. (2007) Visual cues override olfactory cues in the host-finding process of the monophagous leaf beetle *Altica engstroemi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **125**: 81-88.
- Strauss, E. (2009) Phytoplasma Research Begins to Bloom. *Science*. **325**: 388-390.

- Suzuki, S., Oshima, K., Kakizawa, S., Arashida, R., Jung, H.Y., Yamaji, Y., Nishigawa, H., Ugaki, M. & Namba, S. (2006) Interaction between the membrane protein of a pathogen and insect microfilament complex determines insect-vector specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **103**: 4252-4257.
- Swenson, K.G. (1971) Relation of age, sex, and mating of *Macrostelus fascifrons* to transmission of aster yellows. *Phytopathology*. **61**: 657-659.
- Syed, Z. & Leal, W.S. (2009) Acute olfactory response of *Culex* mosquitoes to a human- and bird-derived attractant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **106**: 18803-18808.
- Tammaru, T., Ruohomaki, K. & Saikkonen, K. (1996) Components of male fitness in relation to body size in *Epirrita autumnata* (Lepidoptera, Geometridae). *Ecological Entomology*. **21**: 185-192.
- Tanaka, S. (2006) Corazonin and locust phase polyphenism. *Applied Entomology and Zoology*. **41**: 179-193.
- Tauber, M.J. & Tauber, C.A. (1976) Insect seasonality: diapause maintenance, termination, and postdiapause development. *Annual Review of Entomology*. **21**: 81-107.
- Tavella, L. & Arzone, A. (1993) Comparative morphology of mouth parts of *Zyginidia pullula*, *Empoasca vitis*, and *Graphocephala fennahi* (Homoptera, Auchenorrhyncha). *Bolletino di zoologia*. **60**: 33 - 39.
- Taylor, L.R. (1974) Insect migration, flight periodicity and the boundary layer. *Journal of Animal Ecology*. **43**: 225-238.
- Tedeschi, R., Ferrato, V., Rossi, J. & Alma, A. (2006) Possible phytoplasma transovarial transmission in the psyllids *Cacopsylla melanoneura* and *Cacopsylla pruni*. *Plant Pathology*. **55**: 18-24.
- Thiéry, D. & Marion-Poll, F. (1998) Electroantennogram responses of Douglas-fir seed chalcids to plant volatiles. *Journal of Insect Physiology*. **44**: 483-490.
- Thiéry, D. & Moreau, J. (2011) Chapitre 25. Induction natale de la préférence pour l'habitat (NHPI). *Des Insectes et des Plantes* (ed N. Sauvion, Calatayud P-A., Thiéry D., Marion-Poll F.), pp. 428-435. Ed. IRD & Publibook, France, px-x, in press.
- Thiéry, D., Brévault, T., Quilici, S., Dormont, L. & Schatz, B. (2011a) Chapitre 22. Recherche de la plante à distance. *Des Insectes et des Plantes* (ed N. Sauvion, Calatayud P-A., Thiéry D., Marion-Poll F.), pp. 351-378. Ed. IRD & Publibook, France, px-x, in press.
- Thiéry, D., Derridj, S., Calatayud, P.A., Maher, N. & Marion-Poll, F. (2011b) Chapitre 23. L'insecte au contact de la plante. *Des Insectes et des Plantes* (ed N. Sauvion, Calatayud P-A., Thiéry D., Marion-Poll F.), pp. 388-411. Ed. IRD & Publibook, France, px-x, in press.
- Thiéry, D. & Visser, J.H. (1995) Satiation effects on olfactory orientation patterns of Colorado potato beetle females. *Comptes Rendu de l'Académie des Sciences de Paris*. **318**: 105-111.
- Tipping, C., Mizell, R.F. & Andersen, P.C. (2004) Dispersal adaptations of immature stages of three species of leafhopper (Hemiptera : Auchenorrhyncha : Cicadellidae). *Florida Entomologist*. **87**: 372-379.
- Tjallingii, W. (1978a) Mechanoreceptors of the aphid labium. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **24**: 731-737.
- Tjallingii, W.F. (1978b) Electronic recording of penetration behaviour by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **24**: 521-530.
- Tjallingii, W.F. (1982) Electrical recording of aphid penetration. *5th International Symposium on Insect-Plant Relationships*, pp. 409-410. Pudoc, Wageningen, Wageningen.
- Tjallingii, W.F. (1985) Electrical nature of recorded signals during stylet penetration by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **38**: 177-186.

- Tjallingii, W.F. (1987) Stylet penetration activities by aphids: new correlations with electrical penetration graphs. *Insects-Plants* (ed V. Labeyrie, G. Fabres, D. Lachaise), pp. 301-306. W. Junk Publishers.
- Tjallingii, W.J. (1988) Electrical recording of stylet penetration activities. *Aphids, their Biology, Natural Enemies and Control* (ed A.K. Minks, Harrewijn P.), pp. 95-108. Elsevier, Amsterdam.
- Todd, J.L., Harris, M.O. & Nault, L.R. (1990a) Importance of colour stimuli in host finding by *Dalbulus* leafhoppers. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **54**: 245-255.
- Todd, J.L., Phelan, P.L. & Nault, L.R. (1990b) Interaction between visual and olfactory stimuli during host-finding by leafhopper, *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). *Journal of Chemical Ecology*. **16**: 2121-2133.
- Todd, J.L., Phelan, P.L. & Nault, L.R. (1990c) Orientation of the leafhopper, *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae), to different wavelengths of reflected light. *Journal of Insect Behavior*. **3**: 567-571.
- Torres, E., Botti, S., Rahola, J., Martín, M.P. & Bertaccini, A. (2005) Grapevine yellows diseases in Spain: eight year survey of disease spread and molecular characterization of phytoplasmas involved. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. **62**: 127-133.
- Triplehorn, B.W., Nault, L.R. & Horn, D.J. (1984) Feeding Behavior of *Graminella nigrifrons* (Forbes). *Annals of the Entomological Society of America*. **77**: 102-107.
- Tsai, J.H. & Miller, J.W. (1995) Corn stunt Spiroplasma. *Plant Pathology Circular*, pp. 3. Florida Department of Agriculture and Consumer Services - Plant Pathology Section Circulars, Gainesville FL.
- Tsumuki, H., Nagatsuka, H., Kawada, K. & Kanehisa, K. (1990) Comparison of nutrient reservation in apterous and alate pea aphids, *Acyrtosiphon pisum* (Harris). 1. Developmental time and sugar content. *Applied Entomology and Zoology*. **25**: 215-221.
- Van Asch, M. & Visser, M.E. (2007) Phenology of forest caterpillars and their host trees: The importance of synchrony. *Annual Review of Entomology*. **52**: 37-55.
- Van Den Bosch, F. & Gilligan, C.A. (2008) Models of fungicide resistance dynamics. *Annual Review of Phytopathology*. **46**: 123-147.
- Van Leeuwen, C., Garnier, C., Agut, C., Baculat, B., Bersnard, E., Bois, B., Boursiquot, J.M., Chuine, I., Dessup, T., Dufroucq, T., Garcia-Cortazar, I., Merguerite, E., Monamy, C., Koundouras, S., Payan, J.C., Parker, A., Renouf, A., Rodriguez-Lovelle, B., Roby, J.P., Toniello, J. & Trambouze, W.I.L. (2008) Heat requirements for grapevine varieties is essential information to adapt plant material in changing climate. *VII<sup>th</sup> International terroir Congress*. Changins, Switzerland, 20-23 May 2008.
- Van Wijk, M.T., Williams, M. & Shaver, G.R. (2005) Tight coupling between leaf area index and foliage N content in arctic plant communities. *Oecologia*. **142**: 421-427.
- Vidano, C. (1964) Scoperta in Italia dello *Scaphoideus littoralis* Ball cicalina americana collegata alla «Flavescence dorée» della Vite. *L'Italia agricola*. **1001**: 1031-1049.
- Vidano, C. (1966) Scoperta della ecologia ampelofila del Cicadellide *Scaphoideus littoralis* Ball nella regione neartica originaria. *Annali della Facolta di Scienze Agrarie della Universita degli Studi di Torino*. **3**: 297-302.
- Viggiani, G. (2002) Il vettore della flavescenza trovato in Basilicata. *Informatore Agrario*. **58**: 59.
- Viggiani, G. (2004) Il vettore della flavescenza dorata anche in Campania. *Informatore Agrario*. **60**: 98.
- Visser, J.H. (1986) Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*. **31**: 121-144.
- Visser, J.H. (1988) Host-plant finding by insects – orientation, sensory input and search patterns. *Journal of Insect Physiology*. **34**: 259-268.



- Wallin, H. (1991) Movement patterns and foraging tactics of a caterpillar hunter inhabiting alfalfa fields. *Functional Ecology*. **5**: 740-749.
- Walling, L.L. (2000) The myriad plant responses to herbivores. *Journal of Plant Growth Regulation*. **19**: 195-216.
- Waloff, N. & Popov, G.B. (1990) Sir Boris Uvarov (1889-1970): The Father of Acridology. *Annual Review of Entomology*. **35**: 1-26.
- Wang, X.P., Xue, F.S., Hua, A. & Ge, F. (2006) Effects of diapause duration on future reproduction in the cabbage beetle, *Colaphellus bowringi*: positive or negative? *Physiological Entomology*. **31**: 190-196.
- Watherwoth, H.E. & Mock, R. (1999) An assessment of nested PCR to detect phytoplasmas in imported dormant buds and internodal tissues of quarantined tree fruit germ plasm. *Plant Disease*. **83**: 1047-1050.
- Watt, A.D. & Mcfarlane, A.M. (1991) Winter moth on Sitka spruce: synchrony of egg hatch and budburst, and its effect on larval survival. *Ecological Entomology*. **16**: 387-390.
- Wayadande, A.C. & Nault, L.R. (1993) Leafhopper probing behavior associated with Maize Chlorotic Dwarf Virus transmission to maize. *Phytopathology*. **83**: 522-526.
- Wayadande, A.C. & Nault, L. (1996) Leafhoppers on leaves: An analysis of feeding behavior using conditional probabilities. *Journal of Insect Behavior*. **9**: 3-22.
- Weaver, D.K., Mcfarlane, J.E. & Alli, I. (1990) Repellency of volatile fatty acids present in frass of larval yellow mealworms, *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae), to larval conspecifics. *Journal of Chemical Ecology*. **16**: 585-593.
- Webb, M.D. & Viraktamath, C.A. (2007) Three new Old World species of the leafhopper genus *Scaphoideus* Uhler (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadellidae). *Zootaxa*. 49-55.
- Webber, J.F. (1990) Relative effectiveness of *Scolytus scolytus*, *S. multistriatus* and *S. kirschi* as vectors of Dutch elm disease. *European Journal of Forest Pathology*. **20**: 184-192.
- Wei, W., Kakizawa, S., Suzuki, S., Jung, H.-Y., Nishigawa, H., Miyata, S.-I., Oshima, K., Ugaki, M., Hibi, T. & Namba, S. (2004) In planta dynamic analysis of onion yellows phytoplasma using localized inoculation by insect transmission. *Phytopathology*. **94**: 244-250.
- Weintraub, P.G. & Beanland, L. (2006) Insect vectors of phytoplasmas. *Annual Review of Entomology*. **51**: 91-111.
- Weintraub, P.G., Pivonia, S. & Gera, A. (2008) Physical control of leafhoppers. *Journal of Economic Entomology*. **101**: 1337-1340.
- Wen, J.H., Lin, K.J., Hou, M.L., Lu, W. & Li, J.W. (2009) Influence of foliar and systemically applied azadirachtin on host-plant evaluation behaviour of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Physiological Entomology*. **34**: 98-102.
- Wensler, R. & Filshie, B. (1969) Gustatory sense organs in the food canal of aphids. *Journal of Morphology*. **129**: 473-492.
- Wensler, R. (1974) Sensory innervation monitoring movement and position in the mandibular stylets of the aphid, *Brevicoryne brassicae*. *Journal of Morphology*. **143**: 349-364.
- Wensler, R. (1977) The fine structure of distal receptors on the labium of the aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera). Implications for current theories of sensory transduction. *Cell & Tissue Research*. **181**: 409-422.
- Wertheim, B., Vet, L.E.M. & Dicke, M. (2003) Increased risk of parasitism as ecological costs of using aggregation pheromones: laboratory and field study of *Drosophila-Leptopilina* interaction. *Oikos*. **100**: 269-282.
- Wertheim, B., Van Baalen, E.-J.A., Dicke, M. & Vet, L.E.M. (2005) Pheromone-mediated aggregation in nonsocial arthropods: An evolutionary ecological perspective. *Annual Review of Entomology*. **50**: 321-346.
- West, A.J. & Luntz, A.J.M. (1992) The influence of azadirachtin on the feeding behaviour of cereal aphids and slugs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **62**: 75-79.

- Whitfield, A.E., Ullman, D.E. & German, T.L. (2005) Tospovirus-thrips interactions. *Annual Review of Phytopathology*. **43**: 459-489.
- Wilkinson, T.L., Adams, D., Minto, L.B. & Douglas, A.E. (2001) The impact of host plant on the abundance and function of symbiotic bacteria in an aphid. *Journal of Experimental Biology*. **204**: 3027-3038.
- Wilkinson, T.L. & Douglas, A.E. (2003) Phloem amino acids and the host plant range of the polyphagous aphid, *Aphis fabae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **106**: 103-113.
- Williams, I.H., Frearson, D., Barari, H. & McCartney, A. (2007) Migration to and dispersal from oilseed rape by the pollen beetle, *Meligethes aeneus*, in relation to wind direction. *Agricultural and Forest Entomology*. **9**: 279-286.
- Wipking, W. (1995) Influences of daylength and temperature on the period of diapause and its ending process in dormant larvae of burnet moths (Lepidoptera, Zygaenidae). *Oecologia*. **102**: 202-210.
- Wise, M.J., Kieffer, D.L. & Abrahamson, W.G. (2006) Costs and benefits of gregarious feeding in the meadow spittlebug, *Philaenus spumarius*. *Ecological Entomology*. **31**: 548-555.
- Wool, D. (2004) Gallling aphids: specialization, biological complexity, and variation. *Annual Review of Entomology*. **49**: 175-192.
- Wyss, E. & Daniel, C. (2004) Effects of autumn kaolin and pyrethrin treatments on the spring population of *Dysaphis plantaginea* in apple orchards. *Journal of Applied Entomology*. **128**: 147-149.
- Yukawa, J. & Akimoto, K. (2006) Influence of synchronization between adult emergence and host plant phenology on the population density of *Pseudasphondylia neolitseae* (Diptera: Cecidomyiidae) inducing leaf galls on *Neolitsea sericea* (Lauraceae). *Population Ecology*. **48**: 13-21.
- Zahavi, T., Peles, S., Harari, A.R., Soroker, V. & Sharon, R. (2007) Push and pull strategy to reduce *Hyalesthes obsoletus* population in vineyards by *Vitex agnus castus* as trap plant. *Bulletin of Insectology*. **60**: 297-298.
- Zahniser, J.N. & Dietrich, C.H. (2008) Phylogeny of the leafhopper subfamily Deltocephalinae (Insecta: Auchenorrhyncha: Cicadellidae) and related subfamilies based on morphology. *Systematics and Biodiversity*. **6**: 1-24.
- Zeder, M.A. (2009) The neolithic macro-(r)evolution: macroevolutionary theory and the study of culture change. *Journal of Archaeological Research*. **17**: 1-63.
- Zhang, X.-S., Holt, J. & Colvin, J. (2000) A general model of plant-virus disease infection incorporating vector aggregation. *Plant Pathology*. **49**: 435-444.
- Zonneveld, C. & Metz, J.A. (1991) Models on butterfly protandry: virgin females are at risk to die. *Theoretical Population Biology*. **40**: 308-321.



## LISTE DES PUBLICATIONS EN LIEN AVEC LA THESE

### Articles dans des revues internationales à comité de lecture

**Chuche, J.** and Thiéry, D. 2010. A growing-breeding trade-off as function of egg incubation temperature in an insect. *Oecologia. soumis*

**Chuche, J.**, Danet, J.L. and Thiéry D. 2010. First description of the occurrence of the leafhopper *Phlogotettix cyclops* in a Bordeaux vineyard. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. **44**: 161-165.

**Chuche, J.** and Thiéry, D. 2009. Cold winter temperatures condition the egg hatching dynamics of a grape disease vector. *Naturwissenschaften*. **96**: 827-834.

### Articles de vulgarisation

**Chuche, J.**, Danet, J.L. et Thiéry, D. 2010. Découverte d'une nouvelle espèce de cicadelle du vignoble bordelais, *Phlogotettix cyclops*. *Union Girondine des Vins de Bordeaux*. **1067**: 40-42.

**Chuche, J.** et Thiéry, D. 2009. Températures hivernales et dynamique d'éclosions des larves de cicadelles. *Union Girondine des Vins de Bordeaux*. **1056**: 42-45.

### Communications lors d'un congrès avec publications des actes

**Chuche, J.**, Boursault, A. and Thiéry D. 2010. Preliminary study of the aggregative behavior of *Scaphoideus titanus* larvae. *Bulletin OILB/SROP. Working Group "Integrated Protection and Production in Viticulture"*, *Staufen im Breisgau, Germany, 1st – 4th November 2009. in press*

**Chuche, J.**, Sauvion, N. and Thiéry D. 2010. Electropenetrography, a tool to investigate the feeding behaviour of sucking insects: development of this technique to *Scaphoideus titanus*. *Bulletin OILB/SROP. Working Group "Integrated Protection and Production in Viticulture"*, *Staufen im Breisgau, Germany, 1st – 4th November 2009. in press*

**Chuche, J.**, Boursault, A. and Thiéry D. 2009. Do *Scaphoideus titanus* larvae aggregate for feeding? *Le Progrès Agricole et Viticole. Extended abstracts 16th Meeting of ICVG*, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009, 168-169.

Thiéry, D. & **Chuche, J.** 2007. Réflexion sur le devenir d'insectes du vignoble dans le contexte d'un réchauffement climatique global. Actes de la 8<sup>ème</sup> Journée Technique du CIVB, Bordeaux, 13 mars 2007, 90-101.

### **Communications lors d'un congrès**

- Chuche, J. & Thiéry, D.** 2010. Does *Scaphoideus titanus* aggregate for feeding? Journées Scientifiques de l'ISVV, Bordeaux, 1 & 2 juin 2010.
- Chuche, J. & Thiéry, D.** 2010. Protandrie chez la cicadelle vectrice de la Flavescence dorée de la vigne : sélection sexuelle ou naturelle ? 10<sup>ème</sup> Journée Scientifique de l'École Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé, Arcachon, 28 avril 2010.
- Chuche, J. & Thiéry, D.** 2010. Protandry in the leafhopper *Scaphoideus titanus*: sexual or natural selection? 6th meeting in Ecology and Behaviour, Tours, France, 12-16 April 2010.
- Chuche, J. & Thiéry, D.** 2009. Dynamique d'éclosion de la cicadelle vectrice *Scaphoideus titanus* et synchronisation avec sa plante hôte. 9<sup>ème</sup> Journée Scientifique de l'École Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé, Arcachon, 8 avril 2009.
- Chuche, J. & Thiéry, D.** 2008. Etude de la dispersion à courte distance du vecteur de la Flavescence dorée, *Scaphoideus titanus*. Petit Pois Dérivé, 30ème réunion du groupe de génétique et biologie des populations, Rennes, 25-28 août 2008.
- Chuche, J.** 2008. Comportement et dynamique de *Scaphoideus titanus* vecteur de la Flavescence dorée. 1ères Rencontres de l'ISVV, Bordeaux, 23 & 24 juin 2008.
- Chuche, J. & Thiéry, D.** 2008. Effects of cold temperature on eggs hatching dynamics of the leafhopper *Scaphoideus titanus* and synchrony with its host plant. 4th meeting in Ecology and Behaviour, Toulouse, France, 14-17 April 2008.